

# 角蛋白基药物载体材料的发展及应用探讨

王瑞瑞

(青海师范大学 化学化工学院, 青海 西宁 810016)

**摘要:** 角蛋白作为一种高硫含量且具有良好细胞相容性的结构蛋白, 从而角蛋白基药物载体材料在组织工程、再生医学等领域扮演着重要的角色。将毛发中提取的角蛋白开发具有独特功能的不同形式的角蛋白基药物载体材料, 既能提高药物的活性和生物利用率, 增加毛发的利用价值, 又能实现节能减排。首先, 介绍了角蛋白基药物载体材料的 4 种改性方法: 二硫键重建、自由基聚合、多糖改性和烷基化, 通过改性处理可以赋予角蛋白基药物载体优异的功能特性, 拓宽其作为药物载体的应用范围。然后, 总结了以角蛋白为基础构建的纳米载药粒子、纤维支架和水凝胶载体材料在生物医用领域的应用现状与前沿。最后, 指出了角蛋白基药物载体材料开发与应用中存在的问题与研究方向。

**关键词:** 角蛋白; 二硫键重建; 自由基聚合; 多糖改性; 烷基化; 药物载体

**中图分类号:** TQ460.4; TQ936 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2022) 08-1558-09

## Development and application of keratin-based drug carrier materials

WANG Ruirui

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Normal University, Xining 810016, Qinghai, China)

**Abstract:** Drug carrier materials based on keratin, a structural protein with high sulfur content and good cell compatibility, play an important role in the fields of tissue engineering, regenerative medicine and etc. Development of drug carrier materials with different forms based on hair keratin could improve the activity and bioavailability of delivered drugs, also fully realize the hair value, energy conservation and emission reduction. In this review, four modification methods of keratin-based drug carrier materials were firstly introduced: disulfide reconstruction, free radical polymerization, polysaccharide modification and alkylation, which would confer excellent functional properties to keratin-based drug carrier materials and further broaden their application ranges. The application status and frontier development of keratin-based nanoparticles, fiber scaffolds and hydrogels in biomedical field were then summarized. In the end, the existing problems and research directions of keratin-based drug carrier materials were discussed and envisioned.

**Key words:** keratin; disulfide reconstruction; free radical polymerization; polysaccharide modification; alkylation; drug carriers

角蛋白是一种高硫含量、具有良好细胞相容性的结构蛋白。角蛋白分子结构中富含半胱氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、苏氨酸、亮氨酸、脯氨酸、丝氨酸和甘氨酸等氨基酸<sup>[1]</sup>, 可赋予角蛋白基药物载体材料优异的功能特性<sup>[2-3]</sup>。大量的半胱氨酸残基能够促进谷胱甘肽 (GSH) 的生成, 是天然的抗氧化剂; 半胱氨酸还能够增强白细胞的界面表达, 提高机体

的抵抗力, 维持皮肤的正常功能。谷氨酸是机体细胞代谢中的关键成分; 赖氨酸和精氨酸是胰蛋白酶的作用位点, 使角蛋白基药物载体材料具有酶敏感性。如图 1 所示, 角蛋白分子中含有易被修饰的活性基团 (羧基、酰胺键、巯基等), 同时等电点的存在使角蛋白基药物载体材料具有环境响应性<sup>[4]</sup>。角蛋白分子中富含二硫键, 二硫键形成的交联网状结

构使角蛋白基药物载体材料能够抵御环境因素（温度、光、水、生物攻击等）的变化，具有其他蛋白质材料无法比拟的稳定性<sup>[5]</sup>。

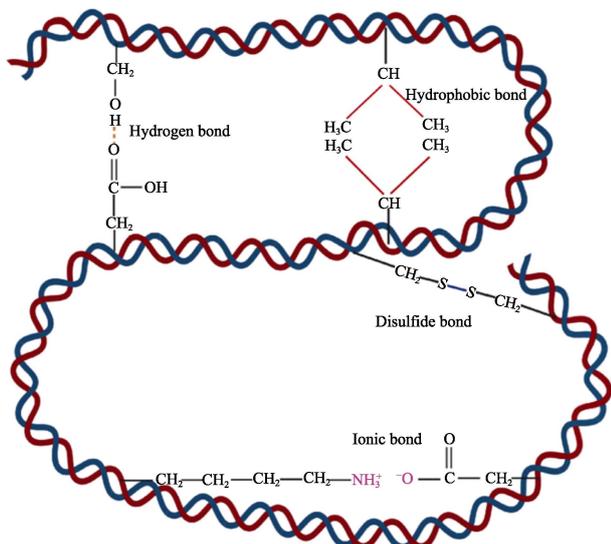


图 1 角蛋白的分子结构<sup>[4]</sup>

Fig. 1 Molecular structure of keratin<sup>[4]</sup>

角蛋白分子中存在细胞粘附序列 LDV（亮氨酸-天冬氨酸-缬氨酸）、EDS（谷氨酸-天冬氨酸-丝氨酸）和 RGD（精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸）<sup>[6-7]</sup>，通过细胞-配体相互作用增强了细胞和基质的相互作用，为细胞提供了良好的生存环境，使角蛋白基药物载体材料具有优异的生物相容性<sup>[8]</sup>。不同于传统合成类高分子载体材料（聚苯乙烯、聚丙烯酸酯、聚乙烯醇、聚酰胺等），角蛋白基药物载体材料安全无害、可再生、可生物降解、具有合成类材料无可比拟的可调性、生物相容性和刺激响应性（温度、pH、氧化条件、特定生物分子等），是开发“智能”药物载体的理想材料<sup>[9]</sup>。也不同于许多传统的生物载体材料（多糖、脂质体、核酸、蛋白质），由于角蛋白具有独特的氨基酸结构，强自组装能力，一定的细胞结合域和抑菌作用等生物学特性，已被证明具有促进组织再生

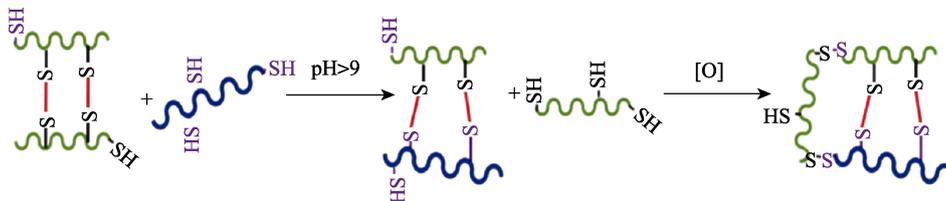


图 2 动态共价交联角蛋白水凝胶的形成机理<sup>[2]</sup>

Fig. 2 Formation mechanism of dynamic covalently cross-linked keratin hydrogel<sup>[2]</sup>

当角蛋白溶液的 pH 调整到 9.5~10.0，将会触发水凝胶形成动态共价交联。结果表明，二硫键和巯基之间的可逆转化使角蛋白基水凝胶表现出独特的自愈合、自适应等动态特性，有效扩大了角蛋白基水凝胶在药物递送领域的应用范围。CHEN 等<sup>[10]</sup>利

的能力。目前，角蛋白基药物载体材料已作为周围神经再生、伤口愈合和止血剂广泛应用于组织工程和再生医学领域<sup>[4]</sup>。作为畜牧业大国之一，中国拥有丰富的毛发资源，因此，从廉价的毛发中提取角蛋白，开发不同形式角蛋白基药物载体材料，既能够提高药物的活性和生物利用率，又能够增加毛发的利用价值，还能够实现节能减排。

## 1 角蛋白基药物载体材料的改性方法

从毛发中提取角蛋白通常需要采用还原法、氧化法、酶解法、离子液体法等方法破坏毛发结构中的二硫键、氢键、范德华力等分子间相互作用力，使角蛋白溶出。由于提取过程中角蛋白的结构在一定程度上遭到破坏，致使其力学性能和热性能均较差，无法与天然存在的角蛋白相媲美，极大地限制了其作为药物载体的应用范围。因此，对角蛋白分子结构上的活性基团进行改性处理是克服这一缺点的最有效方法。由于角蛋白分子结构中可供修饰的基团有限，传统角蛋白基材料的化学改性方法通常需要使用一些具有潜在细胞毒性的化学试剂。例如：戊二醛、乙二醇缩水甘油醚等，而且改性工艺比较繁琐，因此，如何改进改性工艺、简化工艺流程，在改性过程中避免使用有毒试剂仍然是当前角蛋白基载体材料改性的研究重点。

### 1.1 二硫键重建

角蛋白是含有大量半胱氨酸残基的结构蛋白，半胱氨酸残基上的巯基可以与另一个半胱氨酸残基上的巯基形成二硫键，二硫键的桥键作用进而使角蛋白分子之间产生交联、折叠。因此，对角蛋白分子结构上的二硫键进行重建，形成分子间交联，使角蛋白具有高的稳定性，可赋予角蛋白基药物载体材料独特的功能特性。GAIDAU 等<sup>[2]</sup>通过调节角蛋白溶液的 pH，角蛋白分子上的二硫键和巯基之间实现了相互转化，制备出动态共价交联水凝胶，如图 2 所示。

用角蛋白的二硫键的重建原位制备角蛋白基水凝胶。首先，角蛋白分子内的二硫键被半胱氨酸还原成游离巯基；然后，这些游离的巯基又被过氧化氢氧化成分子间的二硫键。用于角蛋白分子间二硫键重建所需的过氧化氢是由葡萄糖氧化酶催化氧化伤

口渗液中的葡萄糖而间接产生。结果表明, 这种间接提供过氧化氢的方式能够有效防止巯基被过度氧化成磺酸基, 整个二硫键重建过程不需要额外添加有机交联剂, 在保持角蛋白固有的生物相容性同时, 避免了有机交联剂所产生的潜在细胞毒性, 提高了注射给药的依存性。这种水凝胶能够在伤口表面自动成型, 可用于不规则伤口的创面敷料。

二硫键重建法方法简单、反应快速, 能有效改善材料的力学性能。但在二硫键重建过程中, 巯基易被氧化剂过度氧化成磺酸基, 因此, 氧化剂的选择和氧化剂用量的严格控制仍然是二硫键重建法的关键。

### 1.2 自由基聚合

利用自由基聚合反应将角蛋白与其他聚合物结合, 不仅能有效提高角蛋白基载体材料的力学性能, 还能赋予其良好的功能特性。角蛋白分子上的氨基、羟基、巯基都可以作为自由基聚合的反应位点<sup>[11]</sup>。CHEN 等<sup>[12]</sup>通过自由基聚合成功在角蛋白表面接枝了温敏性聚合物聚(*N*-异丙基丙烯酰胺) (PNIPAM), 合成了一种具有热响应性角蛋白改性材料, 如图 3 所示。先将角蛋白分散在溶剂二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 在 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 的催化作用下使角蛋白与三乙胺 (Et<sub>3</sub>N) 反应; 接着与 2-溴代异丁酰溴 (BIBB) 反应得到溴代角蛋白; 然后以甲醇 (MeOH) 水溶液为溶剂, 将 Cu(I)Br 完全歧化为 Cu/CuBr<sub>2</sub> 后, 随后在 Cu/CuBr<sub>2</sub> 和三(2-二甲氨基乙基)胺 (Me<sub>6</sub>TREN) 的催化作用下, 使 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM) 与溴代角蛋白发生接枝共聚。结果表明, 接枝在角蛋白表面的 PNIPAM 链具有较高的玻

璃化转变温度, 这种角蛋白改性材料表现出强亲水性, 在生物医用领域具有大的应用潜力。DOU 等<sup>[13]</sup>将角蛋白和 3-磺酸丙基甲基丙烯酸进行链转移反应制备了磺化角蛋白, 然后采用静电纺丝法将磺化角蛋白和聚己内酯共混制成了纳米纤维支架。3-磺酸丙基甲基丙烯酸的引入改善了角蛋白基纤维支架的凝血性能, 可以催化供体在血液中释放 NO, 加速内皮细胞生长, 减少平滑肌细胞增殖, 抑制血小板粘附。自由基聚合法条件温和、工艺简单、操作成本低, 但是聚合过程的可控性较差。

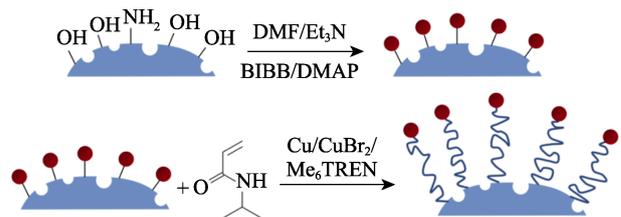


图 3 热响应性角蛋白改性材料的形成机理<sup>[12]</sup>  
Fig. 3 Formation mechanism of heat responsive keratin modified material<sup>[12]</sup>

### 1.3 角蛋白-多糖相互作用

角蛋白和天然多糖大分子 (壳聚糖、海藻酸钠、瓜尔胶、纤维素等) 均能够通过共价键、非共价作用力 (静电相互作用、范德华力等) 及疏水相互作用结合在一起, 形成结构高度有序的角蛋白基药物载体材料, 这种材料具有生物安全性, 能够模拟天然细胞外基质, 常被用于生物活性物质的递送<sup>[14]</sup>。DAS 等<sup>[15]</sup>利用非离子多糖-瓜尔胶和角蛋白相互作用制备了角蛋白基薄膜材料, 如图 4 所示。

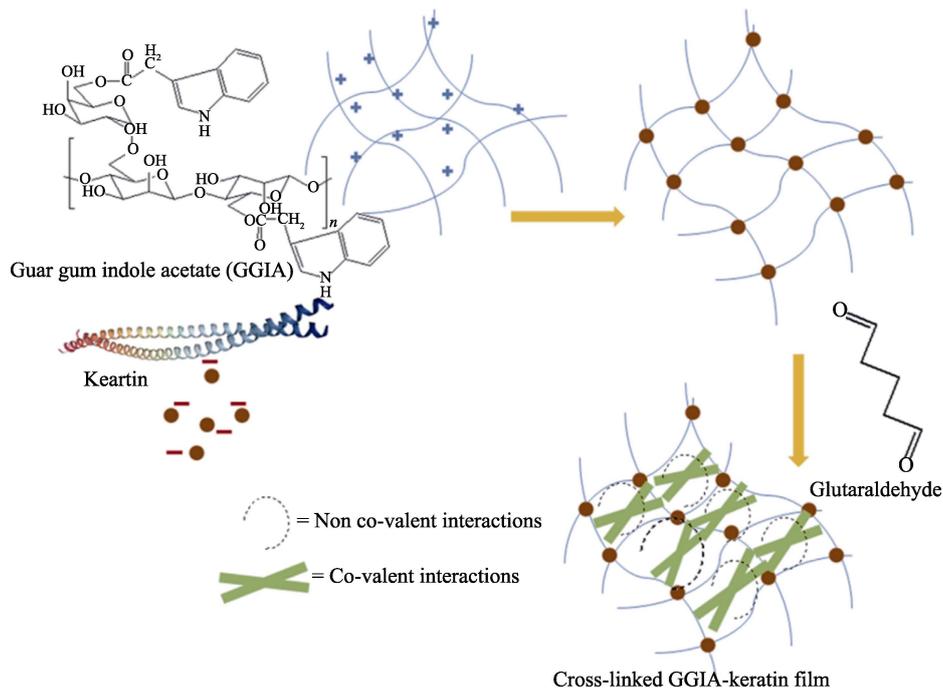


图 4 角蛋白-瓜尔胶膜的形成机理<sup>[15]</sup>  
Fig. 4 Formation mechanism of keratin-guar gum film<sup>[15]</sup>

结果表明, 半乳甘露聚糖骨架上存在大量的甘露聚糖酶水解物, 瓜尔胶的螺旋结构和角蛋白的亚基之间通过共价偶联和 (或) 非共价相互作用交联在一起。这种改性方法能够提高角蛋白基载体材料的力学性能和生物相容性。TAN 等<sup>[6]</sup>利用冷冻干燥技术将壳聚糖与角蛋白混合溶液置于 6 孔培养板中在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  下冷冻干燥 48 h, 得到了多孔支架。结果表明, 壳聚糖能够提高角蛋白基纤维支架的疏水性和机械性能, 降低角蛋白基纤维支架的孔隙度和膨胀率, 减缓角蛋白基纤维支架的降解速率。制备的角蛋白基纤维支架具有良好的抗菌活性和细胞增殖性能。VEERASUBRAMANIAN 等<sup>[16]</sup>开发了一种由魔芋葡甘聚糖、角蛋白和燕麦醇提取物组成的复合水凝胶。结果表明, 魔芋葡甘聚糖是一种具有生物相容性的胶凝剂, 燕麦具有抗炎和抗氧化作用, 能够减少伤口的长期炎症。这种角蛋白基复合水凝胶能够显著加快伤口愈合程度。利用天然生物大分子多糖对角蛋白进行修饰获得的药物载体材料具有相容性好、生物降解性好、血液循环时间长、无毒等优点。但是, 仍然存在材料质量难以实现标准化、稳定性较差、成本较高等缺点。

#### 1.4 烷基化

烷基化改性可以赋予角蛋白基药物载体材料在药物递送过程中的可控性。NAKATA 等<sup>[17]</sup>对羊毛角蛋白进行改性, 对角蛋白上的半胱氨酸残基分别进行乙酰化、羧甲基化或氨基乙基化, 得到了乙酰化角蛋白、羧甲基化角蛋白和氨基乙基化角蛋白, 如图 5 所示。

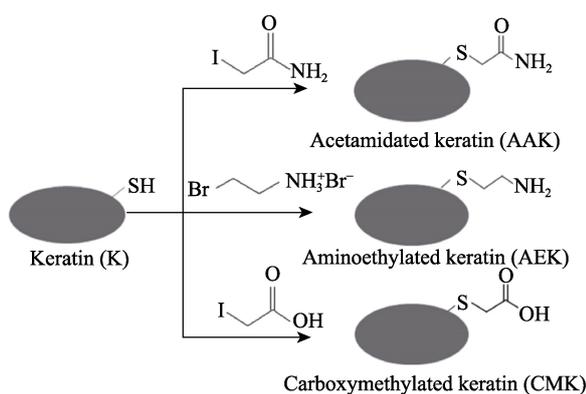


图 5 角蛋白的烷基化改性示意图<sup>[17]</sup>

Fig. 5 Diagram of alkylation modification of keratin<sup>[17]</sup>

3 种水凝胶均表现出独特的力学性能和膨胀行为, 均利于细胞在其表面增殖。结果表明, 羧甲基化角蛋白水凝胶在培养基中表现出高膨胀性, 不能作为细胞底物。氨基乙基化角蛋白可作为血管生长因子等活性物质的缓释载体使用。HAN 等<sup>[18]</sup>采用碘乙酰胺作为角蛋白半胱氨酸残基的烷基化试剂, 通

过调控烷基化程度调节角蛋白水凝胶中二硫键的交联程度, 从而赋予角蛋白水凝胶在药物递送过程中的可控性。结果表明, 通过调节半胱氨酸残基上巯基的烷基化程度可以控制角蛋白水凝胶中的二硫键, 从而达到调节水凝胶侵蚀速率和治疗药剂释放速率的目的。这种烷基化改性方法并没有增加材料的细胞毒性。烷基化法可以使药物分子与载体材料之间可逆结合, 是制备环境响应性药物载体材料的有效手段, 但是由于药物分子与载体材料之间的结合力较弱, 烷基化改性的载体材料普遍存在载药量偏低的缺点。

## 2 角蛋白基药物载体材料的应用现状

### 2.1 用于靶向治疗的纳米载药粒子

角蛋白能够促进细胞-细胞和细胞-基质之间的相互作用, 角蛋白分子结构中的氨基酸残基形成的亲疏水微区能够有效负载亲水或疏水药物, 准确识别肿瘤位置。同时, 角蛋白基纳米载药粒子具有体积小、分散性好、载药能力强等优点, 显著增加药物分子的渗透性和靶向性, 改善药物分子在机体内的分布和停留时间, 降低药物分子对机体的副作用, 提高药物分子的生物利用率<sup>[19]</sup>。

为了减轻疏水性抗癌药物阿霉素 (DOX) 对人体的毒副作用, 研究者们利用脱溶剂法<sup>[19]</sup>、胍键偶联法<sup>[20]</sup>、离子凝胶法<sup>[21]</sup>等方法将 DOX 负载在角蛋白基纳米粒子上, 如图 6 所示。

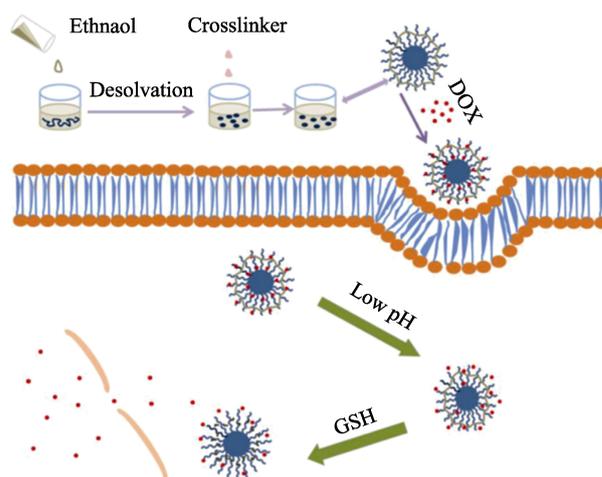


图 6 pH 和 GSH 双响应性角蛋白-DOX 纳米粒子的制备和释药过程示意图<sup>[19]</sup>

Fig. 6 Schematic diagram of preparation and release of pH and GSH dual-responsive keratin-DOX nanoparticles<sup>[19]</sup>

制备的角蛋白基纳米载药粒子具有 pH、GSH 双响应性, 由于肿瘤组织中含有比正常组织更高浓度的 GSH, 并且肿瘤微区偏酸性, 因此, 双响应性角蛋白基纳米载药粒子在肿瘤微区分解 ( $\text{pH}=5.0\sim$

5.5) 而在生理条件下 ( $\text{pH}=7.0\sim 7.4$ ) 保持稳定, 可将阿霉素靶向释放到肿瘤微区, GSH 诱导的电荷反转和高渗透强滞留效应是靶向治疗肿瘤的关键。结果表明, 负载 DOX 的角蛋白基纳米粒子具有良好的肿瘤治疗效果和血液相容性。

近年来, 化疗和光动力相结合的治疗方法被认为是癌症治疗的一种有效措施。LI 等<sup>[22]</sup>以富含半胱氨酸的角蛋白为模板, 经过银离子修饰和钆离子诱导组装制备了角蛋白基金纳米簇 ( $\text{AuNCs-Ag@Keratin-Gd}$ ), 如图 7 所示。先利用富含半胱氨酸的天然角蛋白作为模板, 制备了具有红色荧光的金纳米簇  $\text{AuNCs@Keratin}$ ; 再利用银离子对  $\text{AuNCs@Keratin}$  进行修饰, 得到了  $\text{AuNCs-Ag@Keratin}$ , 银离子可以阻断角蛋白表面的游离巯基, 使  $\text{AuNCs-Ag@Keratin}$  纳米簇具有良好的分散性和胶体稳定性; 最后, 利用钆离子诱导组装形成  $\text{AuNCs-Ag@Keratin-Gd}$  聚集体, 从而显著提高了金纳米簇的荧光强度。结果表明,  $\text{AuNCs-Ag@Keratin-Gd}$  在生物成像和响应性药物递送等领域具有较大的应用潜力。GAIO 等<sup>[23]</sup>在水相中合成了同时负载多西紫杉醇和二氢卟吩 e6 的角蛋白基纳米粒子。结果表明, 角蛋白分子链上的细胞粘附序列使这种角蛋白基纳米粒子具有高渗透强滞留性, 促使药物分子和光敏剂分子同时到达病灶组织, 在治疗过程中药物分子多西紫杉醇和光敏剂分子二氢卟吩 e6 产生了协同作用, 通过化疗和光动力结合疗法可提高肿瘤的治愈率。

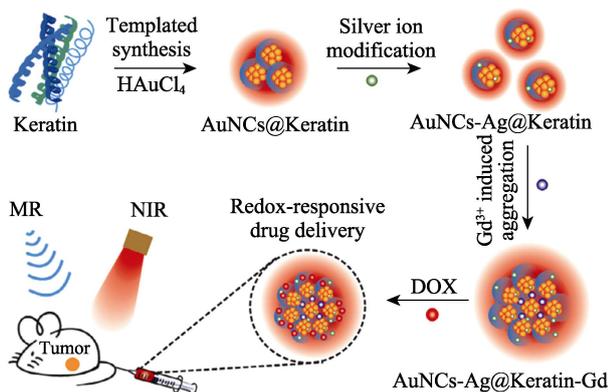


图 7 角蛋白基金纳米簇 ( $\text{AuNCs-Ag@Keratin-Gd}$ ) 的制备和释药过程示意图<sup>[22]</sup>

Fig. 7 Schematic diagram of preparation process and drug release process of gold nanoclusters ( $\text{AuNCs-Ag@Keratin-Gd}$ )<sup>[22]</sup>

充分利用角蛋白强自组装能力和固有的细胞粘附序列, 依靠静电相互作用、氢键等自组装作用稳定携带药物分子, 从而简化角蛋白基纳米载药粒子的制备过程。自组装效应可以调控角蛋白基纳米载药粒子的尺寸、结构、稳定性、溶解度和响应性,

在角蛋白自组装过程中, 非共价键相互作用能够在制备过程少用或不用有毒试剂。总之, 研发多功能智能响应性角蛋白基载药纳米粒子<sup>[24-25]</sup>, 有效提高载药粒子的负载率和生物利用率, 降低纳米载药粒子对机体的副作用仍是当前的研发重点。

## 2.2 负载生物活性物质的纤维支架

角蛋白基纤维支架不仅具有多孔性和透气性, 而且由于角蛋白优异的生物相容性和细胞附着位点的存在, 使角蛋白基纤维支架具有类似真皮的网络结构, 能够模拟天然细胞外基质为细胞的粘附、生长和繁殖提供良好的基质环境<sup>[18,26]</sup>。角蛋白基纤维支架具有一定的机械强度和化学稳定性, 作为生长因子、抗生素和其他活性物质的载体材料已被广泛应用于生物医用领域<sup>[27-29]</sup>。

将角蛋白和其他聚合物材料共混改性可以显著提高角蛋白基纤维支架的机械强度。SINGARAVELU 等<sup>[30]</sup>采用冷冻干燥技术, 以单宁为交联剂, 将角蛋白、纤维蛋白和明胶制备成多孔复合支架, 然后负载莫匹罗星用于伤口愈合药物敷料。结果表明, 角蛋白丰富的二硫键使支架具有较高的力学性能; 明胶使支架具有多孔性, 提高了支架的氧渗透性和生物降解性; 纤维蛋白能够加速吸收伤口渗出液, 利于组织重建。GONG 等<sup>[31]</sup>采用湿法纺丝技术将角蛋白和海藻酸钠制备成具有皮芯结构的载药纤维。结果表明, 皮层由海藻酸钠构成, 氯化钙作为固化剂, 能够延长药物释放时间; 芯材由海藻酸钠、角蛋白和吡啶美辛构成, 芯材中角蛋白的存在可以在海藻酸钠和药物分子之间构建氢键, 从而降低了吡啶美辛的溶出率, 通过调节芯材中羽毛角蛋白的含量实现了吡啶美辛的可控释放。YE 等<sup>[32]</sup>利用谷氨酰胺转氨酶的适度交联作用将角蛋白的相对分子质量控制在 120 kDa, 然后将角蛋白与  $\beta$ -羟基丁酸-羟基戊酸共聚物进行静电纺丝得到了纳米纤维垫, 再利用角蛋白分子上的羧基络合银离子, 通过角蛋白酶的还原作用在纤维垫上原位生成银纳米粒子。结果表明, 谷氨酰胺转氨酶交联法改善了角蛋白的稳定性, 角蛋白显著提高了纳米纤维垫的机械强度。这种角蛋白基复合纳米纤维垫具有良好的抗菌性和生物相容性, 能够有效促进伤口愈合。研究者还注意到 NO 在伤口愈合中扮演关键角色<sup>[13]</sup>。NO 能够引起伤口表面收缩和血管扩张, 在炎症阶段, NO 不仅能介导免疫反应过程, 而且能有效抑制伤口区中各种细菌的生长。同时, NO 能够促进伤口附近成纤维细胞的迁移和增殖和胶原蛋白的形成。YAO 等<sup>[33]</sup>研究发现, 在 GSH 存在的情况下, 角蛋白能够促进内源性 NO 供体释放 NO。因此, WAN 等<sup>[34]</sup>研发出一种角蛋白基一氧化氮供体 (KSNO), 首先将角蛋

白浸泡在叔丁基亚硝酸盐 ( $t\text{-BuNO}_2$ ) 和乙醚 ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) 的混合溶液中制备了 KSNO, 然后将 KSNO 与聚氨酯 (PU) 和明胶共纺得到了复合纤维支架。如图 8 所示。结果表明, 制备的角蛋白基纤维支架能够释放 NO 而无细胞毒性, 同时加速伤口愈合, 无炎症反应。

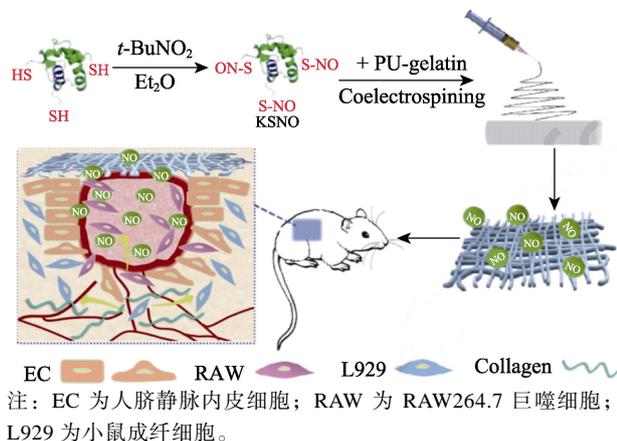


图 8 角蛋白基纤维支架的制备和释放 NO 过程示意图<sup>[34]</sup>  
Fig. 8 Schematic diagram of preparation and NO release of keratin-based scaffolds<sup>[34]</sup>

制备角蛋白基纤维支架的另一种方式是在特定的基底上构建角蛋白纤维, 从而提高角蛋白基纤维支架的力学性能。为了预防牙齿种植体的感染和促进种植体周围健康软组织的形成, FERRARIS 等<sup>[35]</sup>提出了一种表面修饰技术, 利用静电纺丝和热处理沉积法在 Ti 表面生成角蛋白基纳米纤维, 再利用机械打磨在商业纯 Ti 基质表面获得纳米槽 (0.1~0.2  $\mu\text{m}$ )。结果表明, 角蛋白基纳米纤维能够促进成纤维细胞的粘附、定向和增殖, 减少细菌的粘附和渗透。YAO 等<sup>[33]</sup>将角蛋白基与明胶混合, 在商业聚氨酯伤口敷料上进行静电纺丝。结果表明, 聚氨酯外层能够防止细菌和外部污染物的侵袭, 明胶/角蛋白复合纳米纤维作为敷料的内层能够模拟天然细胞外基质的结构, 有利于成纤维细胞的迁移、增殖和生长。这种双层纤维支架具有促进伤口愈合的能力。

利用冷冻干燥、静电纺丝、3D 打印等先进的铸造技术将角蛋白与其他聚合物材料复合制备具有均匀多孔结构的角蛋白基纤维支架, 有效改善角蛋白基纤维支架的机械强度和稳定性。再利用角蛋白分子结构上存在的细胞结合域促进多种细胞 (成骨细胞、成纤维细胞、神经细胞等) 的粘附, 可以赋予角蛋白基纤维支架功能特性<sup>[36-38]</sup>, 同时, 在制备过程中加入一些抗菌成分充分调动角蛋白自身的抗菌活性, 可以进一步扩大角蛋白基药物载体材料的药物递送范围。总之, 作为细胞培养的载体, 角蛋白基纤维支架必须保证足够的机械强度和稳定性。在制

备过程中, 不引入对机体有害的物质, 延缓角蛋白基纤维支架的降解速率仍然是研发的长期目标。

### 2.3 促进组织再生的水凝胶

角蛋白具有强的组织再生能力, 对细胞的增殖和胞外基质的沉积有很大的贡献。角蛋白基水凝胶是由亲水的聚合物链段通过物理或化学交联形成的三维网状结构, 独特的网络结构为水凝胶提供了适度的力学性能和强大的吸液能力。水凝胶自身柔软、灵活, 其生物相容性和高水含量能够为伤口愈合提供微湿环境, 加速伤口愈合过程<sup>[18,39]</sup>。角蛋白基水凝胶对表皮层和真皮层的损伤展示出优异的修复能力。目前, 角蛋白基水凝胶已成为研究人员和临床医生最常使用的伤口敷料形式之一<sup>[40-41]</sup>。

角蛋白分子中高含量的半胱氨酸残基会通过分子间的二硫键使角蛋白基水凝胶形成更硬、更持久的结构<sup>[26]</sup>。SUN 等<sup>[42]</sup>利用过氧化氢交联制备了角蛋白/海藻酸钠双响应性纳米凝胶。其中, 角蛋白为纳米凝胶提供了交联网状结构和独特的生物响应性; 海藻酸钠提高了纳米凝胶的稳定性和载药能力。结果表明, 纳米凝胶对 GSH 和胰蛋白酶具有双重刺激响应性。纳米凝胶对亲水性药物具有高负载率, 在生理环境下由于大分子氢键和界面二硫键交联作用有效抑制了药物的释放。与游离药物相比, 它们在肿瘤区更易积聚, 保留时间更长, 提高了药物的抗肿瘤活性。制备过程中无需添加有机溶剂和催化剂, 细胞毒性小。REN 等<sup>[43]</sup>利用柠檬酸作为交联剂, 使角蛋白、单宁酸和氧化石墨烯量子点形成 pH 响应性水凝胶。结果表明, 单宁酸具有抗氧化、抗病毒、抗微生物、抗炎等多种功能; 氧化石墨烯量子点具有比表面积大、良好的载流子迁移率和导电率等性能; 交联剂柠檬酸无毒无害, 提高了角蛋白/单宁酸-石墨烯氧化物量子点水凝胶的力学性能、稳定性和耐水性, 实现了药物的可控释放。ZHANG 等<sup>[44]</sup>制备了具有 pH 响应性和还原响应性的角蛋白/透明质酸 (HA) 纳米凝胶, 用于肿瘤靶向阿霉素的传递。结果表明, 角蛋白是一种多功能的交联剂, 角蛋白中的氨基可以通过静电相互作用与 HA 中的羧基结合, 并通过离子乳胶化形成纳米凝胶, 角蛋白分子中的巯基可以被氧化成二硫键交联, 通过共价交联制备了负载阿霉素的角蛋白/透明质酸纳米凝胶。

在角蛋白基水凝胶制备过程中加入抗菌材料可以进一步增强角蛋白基水凝胶的抗菌性能。KAKKAR 等<sup>[45]</sup>以正硅酸乙酯为先驱体, 采用溶胶-凝胶法制备了角蛋白/ $\text{SiO}_2$  水凝胶。结果表明,  $\text{SiO}_2$  显著提高了角蛋白基水凝胶的硬度; 角蛋白有效促进成纤维细胞的增殖, 角蛋白/ $\text{SiO}_2$  水凝胶可作为伤口敷料使用。ZHAI 等<sup>[46]</sup>在制备角蛋白-壳聚糖水凝胶的过程中加

入了纳米 ZnO (n-ZnO) 制备了柔性多孔复合绷带。结果表明, 这种角蛋白复合凝胶具有杀菌活性, 促进伤口愈合, 可用于伤口的包扎。SADEGHI 等<sup>[47]</sup>以埃洛石纳米管为药物载体, 以柠檬酸为交联剂制备出负载克林霉素的羧甲基纤维素/角蛋白抗菌创面敷料。结果表明, 埃洛石纳米管比表面积大, 对克林霉素具有强的装载能力, 同时, 其大的长径比、低密度和强亲水性使其能够均匀分散在水凝胶中; 角蛋白能够调节水蒸气的传输速率, 增强水凝胶的稳定性, 改善了羧甲基纤维素/角蛋白水凝胶的适用性。

此外, 采用电子束辐照 (EBI) 法促使角蛋白分子链间产生共价交联, 同时, 促使角蛋白分子链上的巯基和羟基、胺基之间产生物理交联, 如图 9 所示。电子束辐照交联作用不额外使用交联剂和有毒试剂, 在产生交联作用的同时还具有一定的杀菌作用<sup>[48]</sup>。辐射处理过的角蛋白基水凝胶中产生了大量亲水基团和高的孔隙率, 使其吸水率大大提高, 可以用于伤口敷料。LEE 等<sup>[49]</sup>利用电子束辐照 (EBI) 法开发了一种光致发光水凝胶, 利用碳量子点作为发光剂, 将角蛋白和聚乙烯醇通过电子束辐照法制备光致发光水凝胶。结果表明, 在水凝胶制备过程中, 利用电子束辐照不仅能产生交联作用, 而且具有杀菌效果, 在水凝胶体系中不会引入有毒物质。制备的光致发光水凝胶具有多孔网络结构, 负载的碳量子点完整。这种光致发光水凝胶在生物成像分析和药物传递等领域具有应用潜力。

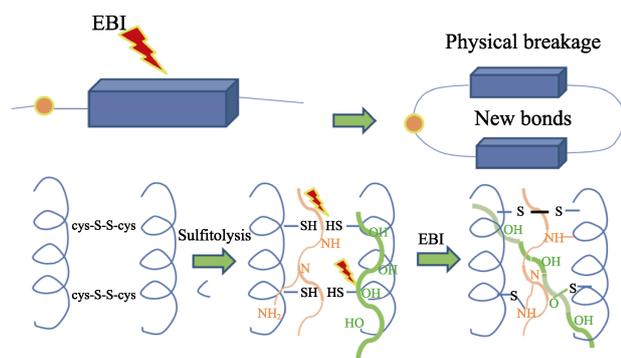


图 9 电子束辐照法制备角蛋白基水凝胶的交联作用<sup>[48]</sup>  
Fig. 9 Crosslinking of keratin-based hydrogels prepared by electron beam irradiation<sup>[48]</sup>

目前, 角蛋白基水凝胶仍然存在稳定性差、生产成本高等缺点, 因此, 在角蛋白基水凝胶形成过程中可以加入一些无机纳米材料或聚合物材料 (聚乙二醇、聚谷氨酸等)<sup>[50-51]</sup>, 使用合适的交联剂 ( $H_2O_2$  等) 使角蛋白上丰富的巯基转化成分子间的二硫键以提高水凝胶的稳定性、可控性。总之, 在赋予角蛋白基水凝胶无毒、无过敏、无刺激、抗感染、舒适性等功能特性的同时, 优化角蛋白基水凝胶的制

备工艺以降低生产成本仍是当前研发的关键。

### 3 结束语与展望

作为最具前途的生物活性载体材料, 角蛋白基药物载体材料可以被加工成各种形式用于受损组织和病灶组织的修复。尽管角蛋白基药物载体材料已成为创面愈合、组织工程、人造假体等研究领域的研究热点。但是由于角蛋白基药物载体材料在机体内较差的稳定性和较快的降解速率往往导致临床实验的失败。今后, 仍需要开展大量的研究工作以扩大角蛋白基药物载体材料的临床应用范围, 最终实现中国畜牧业毛发废弃物的高值利用。

(1) 继续开展角蛋白提取方法的研究, 以实现角蛋白提取方法的标准化。以提高提取角蛋白的重现性为目标, 简化提取工艺流程, 扩大提取规模, 降低生产成本, 为角蛋白基药物载体材料的研发夯实基础。

(2) 利用先进的化学分析手段进一步剖析角蛋白的分子结构, 理清角蛋白相对分子质量、氨基酸组成、结构与角蛋白基药物载体材料性能之间的构效关系, 详细研究角蛋白功能改性的作用位点, 为研究清洁、高效的角蛋白功能改性方法提供理论依据。

(3) 采用先进的化学方法设计角蛋白基药物载体材料的结构, 通过分子模拟设计和预测角蛋白基药物载体的运载行为, 构建角蛋白基药物载体的运载模型, 阐明角蛋白基药物载体材料结构与功能之间的相关性, 进一步提高角蛋白基药物载体材料在体内循环过程中的稳定性, 实现角蛋白基载体材料在体内循环的可控性, 为研发“智能型”的角蛋白基药物载体材料创造条件。

(4) 利用生物医学、材料科学领域的最新研究成果进一步研究角蛋白基药物载体材料与机体组织之间的作用机制, 明确角蛋白基药物载体材料与机体组织之间的作用位点、作用方式, 阐明角蛋白基药物载体材料对药物控释的作用机理, 使角蛋白基药物载体材料在临床上得到充分的利用。

#### 参考文献:

- [1] BERTINI F, CANETTI M, PATROCCHU A, *et al.* Wool keratin-polypropylene composites: Properties and thermal degradation[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2013, 98(5): 980-987.
- [2] GAIDAU C, EPURE D G, ENASCUTA C E, *et al.* Wool keratin total solubilisation for recovery and reintegration-An ecological approach[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 236(1): 117586-117598.
- [3] ZHANG J, LI Y, LI J S, *et al.* Isolation and characterization of biofunctional keratin particles extracted from wool wastes[J]. *Powder Technology*, 2013, 246: 356-362.
- [4] RANJIT E, HAMLET S, GEORGE R, *et al.* Biofunctional approaches

- of wool-based keratin for tissue engineering[J]. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 2022, 7: 100398-100410.
- [5] JIANG Z, YUAN J G, WANG P, *et al.* Dissolution and regeneration of wool keratin in the deep eutectic solvent of choline chloride-urea[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 119: 423-430.
- [6] TAN H B, WANG F Y, DING W, *et al.* Fabrication and evaluation of porous keratin/chitosan (KCS) scaffolds for effectively accelerating wound healing[J]. *Biomedical & Environmental Sciences*, 2015, 28(3): 178-189.
- [7] MI X, CHANG Y, XU H L, *et al.* Valorization of keratin from food wastes via crosslinking using non-toxic oligosaccharide derivatives[J]. *Food Chemistry*, 2019, 300: 125181-125188.
- [8] VAKILIAN S, JAMSHIDI A F, AL S S, *et al.* A keratin-based biomaterial as a promising dresser for skin wound healing[J]. *Wound Medicine*, 2019, 25(1): 100155-100164.
- [9] DICKERSON M B, SIERRA A A, BEDFORD N M, *et al.* Keratin-based antimicrobial textiles, films, and nanofibers[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2013, 1: 5505-5514.
- [10] CHEN Y S, LI Y, YANG X X, *et al.* Glucose-triggered *in situ* forming keratin hydrogel for the treatment of diabetic wounds[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 125: 208-218.
- [11] MARTÍNEZ H A L, SANTIAGO V A L, ALVAREZ P M J. Chemical modification of keratin biofibres by graft polymerisation of methyl methacrylate using redox initiation[J]. *Materials Research Innovations*, 2013, 12(4): 184-191.
- [12] CHEN S K, HORI N, KAJIYAMA M, *et al.* Thermal responsive poly(*N*-isopropylacrylamide) grafted chicken feather keratin prepared via surface initiated aqueous Cu(0)-mediated RDRP: Synthesis and properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153: 364-372.
- [13] DOU J, WANG Y F, JIN X X, *et al.* PCL/sulfonated keratin mats for vascular tissue engineering scaffold with potential of catalytic nitric oxide generation[J]. *Materials Science and Engineering C*, 2020, 107: 110246-110254.
- [14] MUKHERJEE A, KABUTARE Y H, GHOSH P. Dual crosslinked keratin-alginate fibers formed via ionic complexation of amide networks with improved toughness for assembling into braids[J]. *Polymer Testing*, 2019, 81: 106286-106295.
- [15] DAS A, DAS A, BASU A, *et al.* Newer guar gum ester/chicken feather keratin interact films for tissue engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 180: 339-354.
- [16] VEERASUBRAMANIAN P K, THANGAVEL P, KANNAN R, *et al.* An investigation of konjac glucomannan-keratin hydrogel scaffold loaded with *Avena sativa* extracts for diabetic wound healing[J]. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 2018, 165: 92-102.
- [17] NAKATA R, OSUMI Y, MIYAGAWA S, *et al.* Preparation of keratin and chemically modified keratin hydrogels and their evaluation as cell substrate with drug releasing ability[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2015, 120(1): 111-116.
- [18] HAN S, HAM T R, HAQUE S, *et al.* Alkylation of human hair keratin for tunable hydrogel erosion and drug delivery in tissue engineering applications[J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 23: 1-13.
- [19] LI Y M, ZHI X L, LIN J T, *et al.* Preparation and characterization of DOX loaded keratin nanoparticles for pH/GSH dual responsive release[J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2017, 73: 189-197.
- [20] LIU P C, WU Q, LI Y M, *et al.* DOX-conjugated keratin nanoparticles for pH-sensitive drug delivery[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, 181: 1012-1018.
- [21] ALUIGI A, BALLESTRI M, GUERRINI A, *et al.* Organic solvent-free preparation of keratin nanoparticles as doxorubicin carriers for antitumour activity[J]. *Materials Science and Engineering C*, 2018, 90: 476-484.
- [22] LI Y, CAO Y, WEI L, *et al.* The assembly of protein-templated gold nanoclusters for enhanced fluorescence emission and multifunctional applications[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 101: 436-443.
- [23] GAIO E, GUERRINI A, BALLESTRI M, *et al.* Keratin nanoparticles co-delivering docetaxel and chlorin e6 promote synergic interaction between chemo- and photo-dynamic therapies[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2019, 199: 111598-111611.
- [24] MOUSAVI S Z, MANTEGHIAN M, SHOJAOSADATI S A, *et al.* Preparation and characterization of magnetic keratin nanocomposite[J]. *Materials Chemistry & Physics*, 2018, 215: 40-45.
- [25] LIN G Q, CHEN H Y, ZHOU H J, *et al.* Avermectin/polyacrylate nanoparticles: Preparation, characterization, anti-UV and sustained release properties[J]. *International Journal of Polymeric Materials*, 2019, 175: 291-299.
- [26] ALUIGI A, CORBELLINI A, ROMBALDONI F, *et al.* Morphological and structural investigation of wool-derived keratin nanofibres crosslinked by thermal treatment[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 57: 30-37.
- [27] VARANKO A, SAHA S, CHILKOTI A. Recent trends in protein and peptide-based biomaterials for advanced drug delivery[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2020, 156: 133-187.
- [28] ROY D C, TOMBLYN S, BURMEISTER D M, *et al.* Ciprofloxacin-loaded keratin hydrogels prevent *Pseudomonas aeruginosa* infection and support healing in a porcine full thickness excisional wound[J]. *Advances in Wound Care*, 2015, 4: 457-468.
- [29] TACHIBANA A, FURUTA Y, TAKESHIMA H, *et al.* Fabrication of wool keratin sponge scaffolds for long-term cell cultivation[J]. *Journal of Biotechnology*, 2002, 93: 165-170.
- [30] SINGARAVELU S, RAMANATHAN G, RAJA M D, *et al.* Biomimetic interconnected porous keratin-fibrin-gelatin 3D sponge for tissue engineering application[J]. *International Journal of Biological Macromolecules Structure Function & Interactions*, 2016, 86: 810-819.
- [31] GONG X Y, DANG G Y, GUO J, *et al.* A sodium alginate/feather keratin composite fiber with skin-core structure as the carrier for sustained drug release[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 386-392.
- [32] YE J P, GONG J S, SU C, *et al.* Fabrication and characterization of high molecular keratin based nanofibrous membranes for wound healing[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 194: 111158-111197.
- [33] YAO C H, LEE C Y, HUANG C H, *et al.* Novel bilayer wound dressing based on electrospun gelatin/keratin nanofibrous mats for skin wound repair[J]. *Materials Science & Engineering C: Materials for Biological Applications*, 2017, 79: 533-571.
- [34] WAN X Z, LIU S, XIN X X, *et al.* *S*-nitrosated keratin composite mats with NO release capacity for wound healing[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 400: 125964-125990.
- [35] FERRARIS S, GIACHET F T, MIOLA M, *et al.* Nanogrooves and keratin nanofibers on titanium surfaces aimed at driving gingival fibroblasts alignment and proliferation without increasing bacterial adhesion[J]. *Materials Science and Engineering C*, 2017, 76: 1-12.
- [36] DUNCAN W J, GREER P F C, LEE M H, *et al.* Wool-derived keratin hydrogel enhances implant osseointegration in cancellous bone[J]. *Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials*, 2018, 106: 2447-2454.
- [37] SAJEEV J, LOVE R. Effect of keratin preparations on cementoblast OCCM-30 and fibroblast L929 cells[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2020, 7: 1105-1113.
- [38] ZHANG Y J, SUN T, JIANG C. Biomacromolecules as carriers in drug delivery and tissue engineering[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2018, 8(1): 34-50.
- [39] PARK M, SHIN H K, KIM B S, *et al.* Effect of discarded keratin-based biocomposite hydrogels on the wound healing process in vivo[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2015, 55: 88-94.