

# SF/PCL-BSA 皮芯结构纳米纤维支架的制备及缓释性能

张海涛<sup>a</sup>, 骆菁菁<sup>a</sup>, 邢同海<sup>a</sup>, 张洁<sup>a</sup>, 熊杰<sup>a,b</sup>

(浙江理工大学, a. 材料与纺织学院; b. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018)

**摘要:** 以丝素(SF)和聚己内酯(PCL)为皮层,牛血清白蛋白(BSA)为芯层,利用湿法静电纺丝和同轴静电纺丝相结合的方法制备三维多孔 SF/PCL-BSA 皮芯结构纳米纤维支架,对支架的形貌和结构进行了表征,确定其工艺参数,并研究不同皮芯流率对纳米纤维支架在释放性能上的影响。结果表明:在电压 15 kV,皮层流率 0.3 mL/h,皮芯流率比 3:1 和 3:2 的工艺条件下可以得到表面形貌良好,皮芯结构明显的纳米纤维,制备的皮芯结构纳米纤维均可支持 BSA 近 110 h 的释放,无“突释”现象,皮芯流率比为 3:1 时得到的纳米纤维皮层较厚,释放较缓慢,释放机制为 non-fickian 扩散机制;皮芯流率比为 3:2 时得到的纳米纤维皮层较薄,释放较快,释放机制为骨架溶蚀机制。

**关键词:** 丝素蛋白;聚己内酯;皮芯结构;同轴静电纺丝;缓释性能;纳米纤维支架

**中图分类号:** TQ341.5

**文献标志码:** A

## 0 引言

湿法静电纺丝可以制备具有三维多孔结构的组织工程支架来模拟天然细胞外基质结构<sup>[1]</sup>。而天然细胞外基质(ECM)不仅为细胞生长提供结构支撑,还可以调节细胞分泌并储存生长因子<sup>[2]</sup>。这就要求组织工程支架在模拟天然组织结构的基础上,还要具有能负载生长因子、小分子药物等环境刺激因素的缓释系统。目前较为理想的缓释系统结构是将生长因子包裹在纤维内部形成皮芯结构<sup>[3]</sup>。目前常用的制备皮芯结构纳米纤维的方法是乳液静电纺丝<sup>[4]</sup>和同轴静电纺丝<sup>[5]</sup>。Zhang 等<sup>[5]</sup>和 Jiang 等<sup>[6]</sup>利用同轴静电纺丝法分别制备了以聚己内酯(PCL)为皮层,以聚乙二醇(PEG)/牛血清白蛋白(BSA)和 PEG/荧光化 BSA 为芯层的皮芯结构纳米纤维膜,证明了同轴静电纺丝纳米纤维具有良好的缓释性能。

丝素蛋白(SF)来源于天然蚕丝,具有良好的生物相容性;PCL 是一种合成材料,具有良好的力学

性能,两者均广泛地被应用于组织工程支架研究领域,而将两者共混,可得到生物性能和力学性能均良好的支架材料<sup>[7]</sup>。BSA 是一类天然蛋白质,可作为生长因子的保护剂和缓释模型<sup>[8]</sup>。

本文将同轴静电纺丝和湿法静电纺丝相结合,以 SF/PCL 共混体系为皮层,以牛血清白蛋白(BSA)水溶液为芯层和缓释模型药物,研究湿法同轴静电纺丝制备 SF/PCL-BSA 皮芯结构纳米纤维支架的工艺参数,以及不同皮芯流率比对 BSA 缓释性能的影响。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂和材料

再生丝素蛋白(实验室自制);聚己内酯(分析纯,相对分子质量 8 万,深圳光华伟业实业有限公司);碳酸钠(分析纯,成都东金化学试剂有限公司);98%甲酸(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);透析袋(截留分子量 8000~14400 Da,美国联合碳化物公司);无水乙醇(分析纯,杭州高晶精细化工有限

收稿日期: 2015-01-23

基金项目:国家自然科学基金项目(11272289)

作者简介:张海涛(1989-),男,河南洛阳人,硕士研究生,主要从事新纤维材料及功能性纤维材料方面的研究。

通信作者:熊杰, E-mail: jxiong@zstu.edu.cn

公司);牛血清白蛋白(BSA, MW 66 kDa, Biosharp 公司)。

## 1.2 实验仪器

高压电源(FC60P2, 0~50 kV, 美国 Glassman 公司);微量注射泵(KDS 220, 美国 KDS Scientific Inc);磁力搅拌器(IKA®CM-MAG HS 7, 广州仪科实验室技术有限公司);冷冻干燥机(FreezeZone® 2.5 Liter Freeze Dry Systems, LABCONCO 公司);超级恒温水槽(DKB-S24, 上海精宏实验设备有限公司)。

## 1.3 湿法同轴静电纺丝装置

湿法同轴静电纺丝装置是在湿法静电纺丝装置的基础上,将平头不锈钢针头换成特殊的同轴静电纺丝针头,如图1所示。

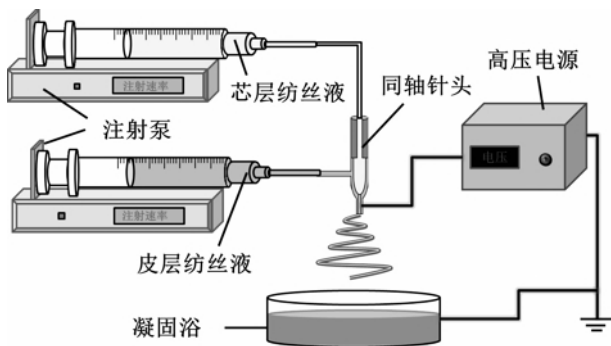


图1 湿法同轴静电纺丝装置

## 1.4 皮芯结构纳米纤维支架的制备

将适量 SF 和 PCL 按照质量比 70 : 30 溶解于甲酸溶液中,配制成 18% (质量分数) 的皮层纺丝液。将适量 BSA 溶解于去离子水中,配制成 0.3 g/mL 的芯层纺丝液。利用图 1 的湿法同轴静电纺丝装置进行纺丝。设置皮层流率为 0.3 mL/h 不变,调整外加电压为 18、15、12 kV,调整芯层流率分别为 0.1、0.2、0.3 mL/h。将收集的纳米纤维分散液移入透析袋,在去离子水中透析 2 d,置于模具中定型后冷冻干燥得到皮芯结构纳米纤维支架。

## 1.5 皮芯结构纳米纤维支架的形貌、结构测试

使用 ultra55 场发射扫描电子显微镜和 BX51 光学显微镜,观察纳米纤维支架表面形貌和纳米纤维形貌。使用 JSM-2100 透射电子显微镜(TEM, JEOL, Japan, 加速电压为 200 kV),观察纳米纤维的皮芯结构。

## 1.6 皮芯结构纳米纤维支架的释放性能测试

本文使用的模型药物是牛血清白蛋白,其含量可由蛋白质的紫外吸光度<sup>[9]</sup>来进行测定。首先精确称量适量的 BSA 溶于 PBS 溶液中,分别配制已知浓度的 BSA 溶液并在 278 nm 处测量吸光度,绘制

标准曲线,拟合标准方程。然后,将皮芯结构纳米纤维支架放置在 6 孔板中,加入 10 mL 的 PBS 缓冲液,保持水平温和晃动,37 °C 培育。在培育达到 2、12、24、39、51、63、80、110 h 时,取出 2 mL 的浸出液测定吸光度,同时加入 2 mL 新鲜的 PBS 缓冲液。

累积释放量  $Q$  由下式计算:

$$Q = \left[ (M_t + \sum_{i=1}^{t-1} M_i) / M_x \right] \times 100\% \quad (1)$$

$$M_x = (M_c / M_0) \times M_1 \quad (2)$$

式(1)中: $M_t$  是  $t$  时间的 BSA 释放量, $M_i$  是  $i$  时间的 BSA 释放量, $M_x$  是理论上纤维内含有的 BSA 的量;假设静电纺丝中全部纤维都被接收,可由式(2)计算纤维理论上含有的蛋白量。式(2)中: $M_c$  是芯层纺丝液中蛋白的质量, $M_0$  是皮层和芯层纺丝液中溶质的总质量, $M_1$  是测试中的皮芯结构纳米支架的质量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 皮芯结构纳米纤维的形貌分析

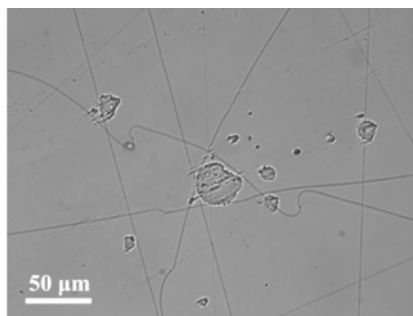
电压和皮芯层纺丝液流率比是影响同轴静电纺丝纳米纤维的主要工艺参数,本文将主要通过调节这两项参数来得到皮芯结构纳米纤维。

#### 2.1.1 电压对皮芯结构纳米纤维形貌的影响

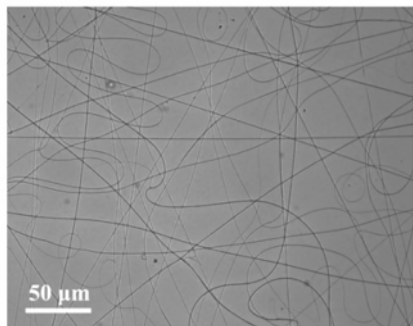
芯层纺丝液选用 BSA 水溶液,溶液本身的黏度很低,不能单独静电纺丝,所以施加的电压参照皮层纺丝液。在此,固定皮芯层纺丝液的流率比为 3 : 1 (皮层流率 0.3 mL/h,芯层流率 0.1 mL/h),调节不同电压来研究其对同轴静电纺丝的影响。研究发现,当外加电压为 18 kV 时,芯层纺丝液在强电场作用下的流体扰动非常剧烈,常常突破皮层纺丝液单独喷出,在收集板上形成液滴,而被突破的皮层纺丝液会单独成丝,如图 2 (a) 所示。当电压降低到 15 kV 时,芯层纺丝液的扰动有所缓解,喷嘴处形成了较为稳定的泰勒锥,在接收板上得到了形貌较好的纳米纤维,如图 2 (b) 所示。当电压降低到 12 kV 时,喷嘴处的带电液滴不能有效地被拉伸,观察不到明显的泰勒锥,且纺丝液在喷嘴处堆积造成喷嘴很快被堵塞,不能在接收板上得到明显的纳米纤维。综上所述,宜选用 15 kV 为外加电压。

#### 2.1.2 皮芯层纺丝液流率比对纳米纤维形貌的影响

参考上文结果固定外加电压为 15 kV。当皮芯层纺丝液流率比 3 : 1 时可以在接收板上得到形貌较好的纳米纤维(见图 2(b));当皮芯层纺丝液流率比为 3 : 2 (皮层流率 0.3 mL/h,芯层流率 0.2 mL/h),喷嘴处的泰勒锥有一定程度的拉长,但收集板



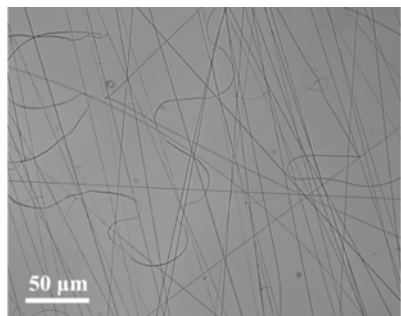
(a) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.1 mL/h, 电压18 kV



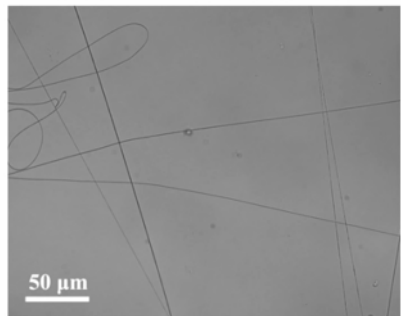
(b) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.1 mL/h, 电压15 kV

图2 不同电压制备的纳米纤维的光学显微照片

上还是能得到形貌良好的纳米纤维,未观察到液滴和明显的串珠,如图3(a)所示;当皮芯层纺丝液流率比为3:3(皮芯层流率均为0.3 mL/h),喷嘴处的泰勒锥变成了圆润的带电液滴,收集板上得到了部分未见明显串珠的纳米纤维,如图3(b)所示,但喷嘴处的带电液滴会大量积聚,而后从喷嘴处滴下。



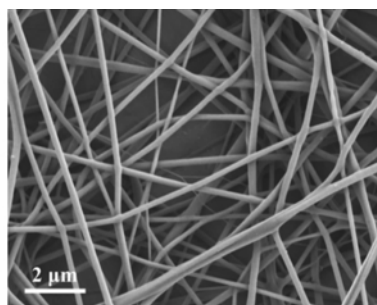
(a) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.2 mL/h(3:2), 电压15 kV



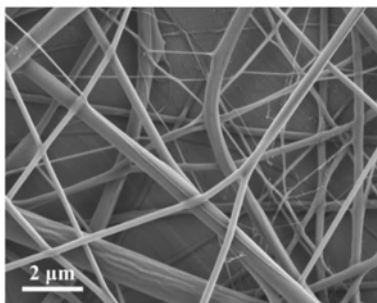
(b) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.3 mL/h(3:3), 电压15 kV

图3 不同纺丝流率比制备的纳米纤维的光学显微照片

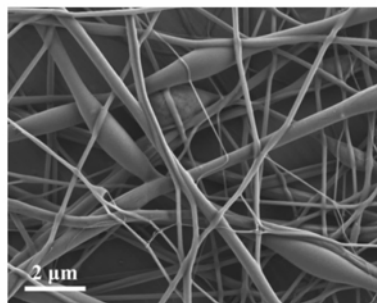
为进一步观察所得纳米纤维的形貌,将部分不同工艺条件下收集的纳米纤维进行扫描电镜观察,结果如图4所示。



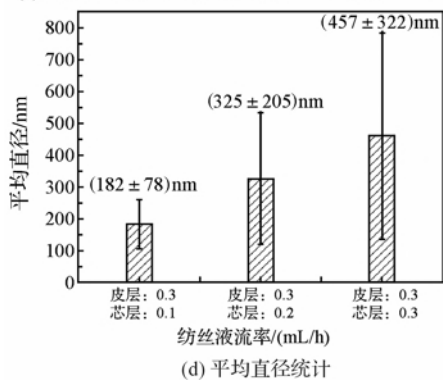
(a) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.1 mL/h, 电压15 kV



(b) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.2 mL/h, 电压15 kV



(c) 皮层流率0.3 mL/h, 芯层流率0.3 mL/h, 电压15 kV



(d) 平均直径统计

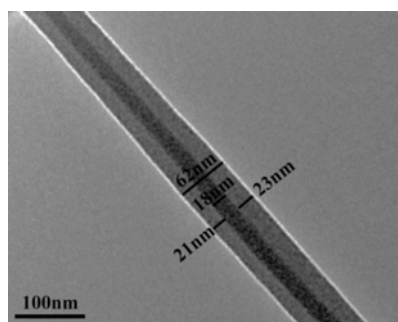
图4 不同纺丝参数下的 SF/PCL-BSA 皮芯结构纳米纤维的 SEM 图

从图4(a)可以看出,当流率比为3:1时,所得到的纳米纤维的形貌良好,没有明显的串珠,纤维直径较小,均一性良好。从图4(b)可以看出,当流率比为3:2时,所得到的纳米纤维未出现明显的串珠结构,但纤维直径变粗,较为不均一。从图4(c)可

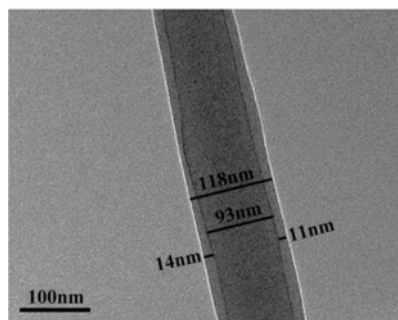
以看出,当流率比为 3:3 时,部分纤维出现了串珠结构,纤维直径不够均一。图 4(d)是上述纳米纤维的平均直径和标准差的统计结果,从图中可以看出,流速比为 3:1 时得到的纳米纤维的平均直径为  $(182 \pm 78)$  nm,小于 SF/PCL 单独静电纺丝时的平均直径  $(295 \pm 86)$  nm。分析认为这因为芯层纺丝液为黏度较小的水溶液,降低了整个体系的黏度,使得纤维更加易于拉伸<sup>[4]</sup>。流速比为 3:2 时得到的纳米纤维的平均直径为  $(325 \pm 265)$  nm,直径分布比 SF/PCL 单独静电纺丝时变得宽。分析认为较细的纤维应是皮芯结构纳米纤维,而较粗的纤维应是共混纳米纤维,芯层纺丝液中的水使 PCL 凝固析出,限制了纤维的进一步拉伸,得到的为较粗的纤维。当流速比为 3:3 时得到的纳米纤维的出现了串珠结构,分析认为芯层流率过大,使皮层纺丝液不能完全包裹芯层纺丝液,形成了共混结构,而且共混位置的芯层纺丝液较多,使得 PCL 没有充分拉伸就固化析出,形成了串珠。

## 2.2 纳米纤维的皮芯结构分析

将上述形貌较好的纳米纤维进行透射电子显微镜观察,结果如图 5。从图 5 可以看出,皮芯层流率比为 3:1 和 3:2 均可以得到明显的皮芯结构的纳米纤维。因芯层纺丝液以水为溶剂,而水对于 PCL 是不良溶剂,因此芯层不会大量扩散到皮层中,使二者存在明显的界面。如图 5(a)所示,当流率比为 3:1 时,



(a) 皮层流率比3:1



(b) 皮层流率比3:2

图5 皮芯结构纳米纤维的 TEM 图

芯层明显处于纤维的中轴线上,所得皮芯结构中皮层厚度较厚,约为 22 nm 左右,芯层直径占纤维直径的 29.03%。从图 5(b)可以看出,当流率比为 3:2 时,皮层较薄,皮层厚度仅为 12.5 nm 左右,芯层直径占纤维直径的 79.83%。TEM 测试过程中发现呈皮芯结构的纳米纤维占大多数,而未形成皮芯结构的纳米纤维中的 BSA 会在透析过程中被洗脱,对释放性能不产生影响。

## 2.3 皮芯结构纳米纤维支架的药物释放性能

将一定质量的 BSA 溶于 PBS 溶液并测试其吸光度,绘制 BSA 标准浓度曲线,其结果见图 6。图 6 显示,曲线拟合情况良好,方程式为  $y = 0.5459x + 0.02138$ ,  $R^2 = 0.9992$ 。

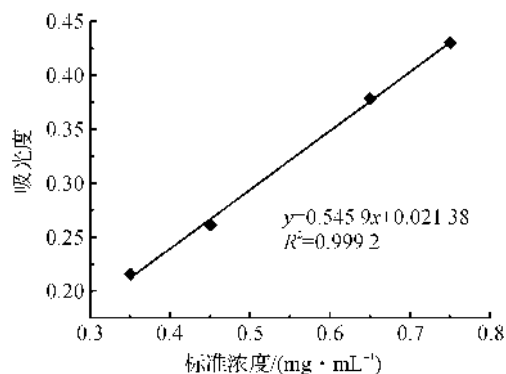


图6 BSA 标准浓度曲线

图 7 是不同皮芯流率比的纳米纤维支架的体外累计释放曲线。从图 7 可以看出,当皮芯流率比为 3:1 时,前期释放得较快;释放 12 h 的释放量达到 14.59%,27 h 后达到 32.26%;27 h 后释放速度稍放缓,53 h 后释放量达到 38.67%;此后释放速度再次加快,108 h 后释放量达到 81.52%。同样的规律也可以在流率比为 3:2 的曲线上看到,27 h 释放量达到 38.85%,53 h 达到 54.39%,108 h 后释放量达到 95.04%。总体来说皮芯流率比为 3:2 时的释放量大于 3:1 时的释放量。

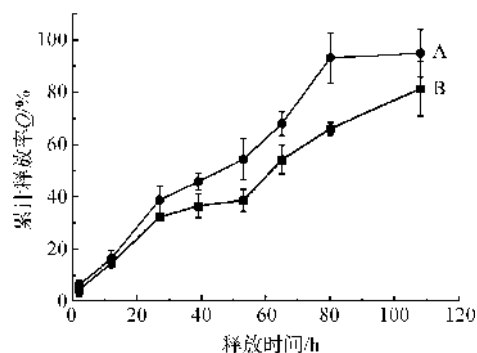


图7 不同皮芯流率比的纳米纤维支架累计释放曲线

A: 皮芯流率比 3:2; B: 皮芯流率比 3:1

由《中国药典》<sup>[10]</sup>可知,药物从载体中的释放通常由一种甚至几种机制同时作用。因 BSA 属于水溶性药物,在去离子水中透析后,皮芯结构纳米纤维几乎不存在残留在纤维表面的 BSA,所以可能的调控机制是药物从溶胀的基体材料中扩散以及载药骨架溶蚀后药物释放。分析认为当皮芯流率比为 3:1 时,皮层较厚,释放介质首先使纳米纤维溶胀,在纤维上出现孔洞,BSA 通过这些孔洞释放到介质中;随着释放时间延长,纤维开始降解,BSA 进一步通过这些破裂的部位释放。当皮芯流率比为 3:2 时,皮层较薄,释放介质使纤维溶胀,而部分较薄的皮层很快出现了溶蚀,BSA 快速地通过溶蚀部位释放到介质中去。

#### 2.4 皮芯结构纳米纤维支架的释放机制探讨

由上文的分析可知,本文中的 BSA 的释放主要是扩散机制和骨架溶蚀机制的作用,具体归属可由 Ritger-peppas 模型<sup>[11]</sup>来判断:

$$Q = kt^n \quad (3)$$

其中:Q 为累计释放率,t 为释放时间,n 为释放特征参数,与载药系统的形状有关,可以用来描述药物的释放机制机理<sup>[11]</sup>:对于纤维这种圆柱形系统,当  $n < 0.45$  时,属于 fickian 扩散;当  $0.45 < n < 0.89$  时,属于 non-fickian 扩散,即扩散和骨架溶蚀同时作用;当  $n > 0.89$  时,属于骨架溶蚀机制。本文两种不同皮芯流率比的纳米纤维支架的 Ritger-peppas 模型拟合结果如表 2 所示。

表 2 不同皮芯流率比的纳米纤维支架的 Ritger-peppas 模型拟合结果

皮芯流率比	拟合方程	k	n	R <sup>2</sup>
3:1	$Q = 2.0839t^{0.781}$	2.0839	0.781	0.977
3:2	$Q = 3.1049t^{0.912}$	3.1049	0.912	0.962

从表 2 可以看出,皮芯流率比为 3:1 时  $n = 0.781$ ,属于 non-fickian 扩散机制,是扩散和骨架溶蚀同时作用的结果;而皮芯流率比为 3:2 时  $n = 0.912$ ,属于骨架溶蚀机制。

### 3 结论

为提高制备的纳米纤维支架的功能性,建立生长因子缓释系统,本文通过湿法同轴静电纺丝制备了 SF/PCL-BSA 皮芯结构纳米纤维支架。当固定皮层流率为 0.3 mL/h 时,电压 15 kV,芯层流率 0.1 mL/h 和 0.2 mL/h 可得到形貌良好的纳米纤维。TEM 结果显示,皮芯流率比分别为 3:1 和 3:2 制备的纳米纤维其皮芯结构明显。不同皮芯流

率比的纳米纤维的释放曲线类似,皮芯流率比为 3:2 时的累积释放量大于皮芯流率比为 3:1 时的累积释放量,皮芯流率比为 3:1 时,释放特征参数  $n = 0.781$ ,属于 non-fickian 扩散机制;而皮芯流率比为 3:2 时  $n = 0.912$ ,属于骨架溶蚀机制。

#### 参考文献:

- [1] Ki C S, Park S Y, Kim H J, et al. Development of 3-D nanofibrous fibroin scaffold with high porosity by electrospinning: implications for bone regeneration[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(3): 405-410.
- [2] 郭勇, 刘璐, 郝庆新, 等. 体外培养所形成的细胞外基质对 MC3T3-E1 细胞生长和分化的影响[J]. 生物工程学报, 2011, 27(11): 1606-1612.
- [3] 王建广, 刘俊建, 范存义, 等. 同轴静电纺丝法制备神经生长因子纳米纤维缓释载体[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(23): 4440-4444.
- [4] Xu X L, Zhuang X L, Chen X S, et al. Preparation of core-sheath composite nanofibers by emulsion electrospinning [J]. Macromolecular Rapid Communications, 2006, 27(19): 1637-1642.
- [5] Zhang Y Z, Wang X, Feng Y, et al. Coaxial electrospinning of (fluorescein isothiocyanate-conjugated bovine serum albumin)-encapsulated poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibers for sustained release [J]. Biomacromolecules, 2006, 7(4): 1049-1057.
- [6] Jiang H L, Hu Y Q, Li Y, et al. A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofibers for controlled release of bioactive agents [J]. Journal of Controlled Release, 2005, 108(2): 237-243.
- [7] Lee H, Kim G. Biocomposites electrospun with poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and silk fibroin powder for biomedical applications [J]. Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition, 2010, 21(13): 1687-1699.
- [8] Seyednejad H, Ji W, Yang F, et al. Coaxially electrospun scaffolds based on hydroxyl-functionalized poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and loaded with VEGF for tissue engineering applications [J]. Biomacromolecules, 2012, 13(11): 3650-3660.
- [9] 郭尧君. 分光光度技术及其在生物化学中的应用: 紫外-可见-近红外[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 223-252.
- [10] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 77-78.
- [11] Ritger P L, Peppas N A. A simple equation for description of solute release I: Fickian and non-Fickian release from non-swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs [J]. Journal of Controlled Release, 1987, 5(1): 23-36.

## Numerical Simulation of Shock Wave Characteristics in Micro Shock Tubes

ZHANG Guang<sup>1</sup>, CUI Bao-ling<sup>1</sup>, JIN Ying-zi<sup>1</sup>, KIM Heuy-dong<sup>2</sup>

(1. The Zhejiang Provincial Key Laboratory of Fluid Transmission Technology Research, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Department of Mechanical Engineering, Andong National University, Andong 760749, Republic of Korea)

**Abstract:** Numerical simulation was applied to study internal flow of micro shock tube in order to study unsteady flow and shock wave motion characteristics in micro shock tube. Contrastive analysis was conducted for effects of different diaphragm pressure ratio (initial pressure ratio of high-pressure cavity and low-pressure cavity), and shock tube diameter on shock wave in micro shock tube, contact surface and fluid motion characteristics. Besides, experimental data were compared. The results show motion speed of shock wave and contact surface increases gradually with the increase in the diaphragm pressure ratio; when shock wave moves in micro shock tube, shock wave strength gradually weakens; a thick boundary layer is observed when pressure intensity in low-pressure driven cavity, which indicates that low pressure effect makes shock wave and flow more energy lose; pressure gradient in the front of and after shock wave gradually decreases as shock wave motion decreases gradually; the motion speed gradually increases when the contact surface moves in micro shock tube; in addition,  $S$  value can indicate effects of low pressure and small scale in micro shock tube.

**Key words:** micro shock tube; shock wave; contact surface; unsteady flow; numerical simulation

(责任编辑: 康 锋)

(上接第 770 页)

## Preparation and Slow Release Properties of Nanofibrous Scaffolds with SF/PCL-BSA Sheath-core Structure

ZHANG Hai-tao<sup>a</sup>, LUO Jing-jing<sup>a</sup>, XING Tong-hai<sup>a</sup>, ZHANG Jie<sup>a</sup>, XIONG Jie<sup>a,b</sup>

(a. School of Materials and Textiles; b. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** 3D porous SF/PCL-BSA nanofibrous scaffolds were prepared by combining wet electrospinning and coaxial electrospinning, taking SF and PCL as the sheath layer and taking BAS as the core layer. The morphology and structure of the scaffolds were characterized. The technological parameters were determined. Besides, the influence of different sheath-core flow rate on release property of nanofibrous scaffolds were studied. The results show that nanofibers with good surface topography and obvious sheath-core structure can be gained under the following process conditions: voltage 15kV, sheath layer flow rate 0.3 mL/h, sheath-core flow rate 3 : 1 and 3 : 2; nanofibers with skin-core structure can support nearly 110h BSA release; with no “sudden release” phenomenon; when sheath-core flow rate is 3 : 1, nanofiber sheath layer is thick and the release is slow; release mechanism is non-fickian diffusion mechanism; when sheath-core flow rate is 3 : 2, nanofiber sheath layer is thin and the release is fast and the release mechanism is skeleton corrosion mechanism.

**Key words:** silk fibroin; polycaprolactone; sheath-core structure; coaxial electrospinning; slow release property; nanofibrous scaffolds

(责任编辑: 张祖尧)