

# 静电纺 PLGA/姜黄素复合薄膜的制备及抗凝血研究\*

陈艳<sup>1</sup>, 林杰<sup>2</sup>, 张晓静<sup>1</sup>, 王鸿博<sup>1</sup>, 高卫东<sup>1</sup>

(1 江南大学生态纺织科学与技术教育部重点实验室, 无锡 214122; 2 解放军 101 医院, 无锡 214044)

**摘要** 为了研究姜黄素的抗凝血性能, 采用静电纺丝技术, 以生物可降解 PLGA 为载体制备了 PLGA 与姜黄素质量比分别为 4: 1, 2: 1 和 3: 2 的纳米纤维复合薄膜。采用傅里叶变换红外光谱研究了复合薄膜的组成成分, 结果显示姜黄素与 PLGA 的特征峰均出现在复合薄膜的红外图谱中; 利用扫描电镜(SEM)及相关分析软件分析了不同质量比时纳米纤维膜的表面形态及直径分布。在实验范围内, 复合纳米纤维的平均直径为 370~800nm, 均匀性较好, 且纤维平均直径随姜黄素含量的增加而增大。同时研究了复合薄膜的部分凝血活酶时间(APTT), 结果表明, 复合薄膜的 APTT 比原血浆的延长了 18s, 说明 PLGA/姜黄素复合薄膜具有良好的抗凝血性能, 且抗凝血性能随姜黄素含量的增加而进一步提高。

**关键词** 静电纺 姜黄素 PLGA 抗凝血

中图分类号: TS 文献标识码: A

## Preparation and Anticoagulation Evaluation of Electrospun PLGA/ Curcumin Composite Films

CHEN Yan<sup>1</sup>, LIN Jie<sup>2</sup>, ZHANG Xiaojing<sup>1</sup>, WANG Hongbo<sup>1</sup>, GAO Weidong<sup>1</sup>

(1 Key Laboratory of Science & Technology of Eco-textiles of Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122;

2 People's Liberation Army 101 Hospital, Wuxi 214044)

**Abstract** In order to study the anticoagulation properties of curcumin, different mass ratios (4: 1, 2: 1 and 3: 2 of PLGA and curcumin) composite films are prepared using a biodegradable polymer PLGA as the carrier of curcumin by electrostatic spinning technology. The component film is analyzed by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and the major peaks of curcumin and PLGA are both observed in the composite film; The diameter distribution and morphology of different nanofibres are analyzed by scan electric microscope (SEM) and related software. Within the framework of the experiment, the average diameter of composite nanofibers is between about 370nm and 800nm with better uniformity, furthermore the average diameter of composite nanofibers increases with the curcumin content increase; At the same time, activated partial thromboplastin time (APTT) of all composite films are analysed. The results indicate that all composite films have better anticoagulation effect which is lengthened by 18s, compared with the original plasma. In addition, all anticoagulation tests indicate the higher the curcumin content is in the film, the better the anticoagulation effect is.

**Key words** electrostatic spinning, curcumin, PLGA, anticoagulation

## 0 引言

静电纺丝技术是目前制备超细纤维最重要的方法之一, 其制备的纳米纤维具有细度小、比表面积大、孔隙率高等特点, 因而具有广泛用途, 尤其在生物医学领域。目前, 静电纺超细纤维已成功用作组织工程支架、药物传输与缓控释放的载体及创伤敷料等<sup>[1, 2]</sup>。

生物可降解高分子材料 PLGA 具有良好的可降解性以及生物相容性, 已用作药物控制释放的载体、外科用手术缝合线以及组织工程的支架材料<sup>[3-6]</sup>。姜黄素作为一种中药提

纯物, 具有多种药理活性, 可以抑制由二磷酸腺苷、肾上腺素和胶原质诱导产生的血小板聚集, 也可以通过影响血小板激活因子以及防止血栓素形成来减少血小板团聚<sup>[7-10]</sup>。尽管对于姜黄素的抗凝血机制已有一些研究报道<sup>[9, 10]</sup>, 但对于姜黄素与材料组成的复合体系的抗凝血性能却少有研究, 而且复合体系的制备大都是通过静置成膜的方法<sup>[11]</sup>。

本实验的主要目的是通过静电纺丝技术制备 PLGA/姜黄素复合薄膜, 并对其体外抗凝血性能进行相关评价, 为直接制备血管支架材料或对现有血管支架材料加膜开展前期探索性研究。

\* 江苏省高等学校优秀科技创新团队资助课题(苏教科 2009 10); 江苏省丝绸工程重点实验室资助项目(KJS0819)

陈艳: 女, 1984 年生, 硕士研究生, 研究方向为功能纺织材料 E-mail: cy123452212@sina.com 王鸿博: 通讯作者, 教授 E-mail: wxwanghb@163.com

## 1 实验

### 1.1 原料和设备

姜黄素, 纯度 95%, 上海融禾医药科技发展有限公司; 聚乳酸-乙醇酸共聚物 (PLGA), 75/25, 平均分子量 25 万, 济南岱罡生物科技有限公司; 氯仿, 分析纯 AR, SCRC 国药集团化学试剂有限公司; 生理盐水, 江苏四环生物股份有限公司; 戊二醛 25% 溶液, 生化试剂 BR, SCRC 国药集团化学试剂有限公司; 部分凝血活酶和  $\text{CaCl}_2$ , 西门子公司。

静电纺丝仪, 本实验室自组静电纺丝设备; S-3000 扫描电镜, 日立 HITACHI 公司; 85-2 型恒温磁力搅拌器, 上海司乐仪器有限公司; 低速离心机, 科大创新股份有限公司; CA7000 凝血仪, 日本 Sysmex 公司; Nicolet Nexus470 型傅里叶红外光谱仪, Thermo Electron Corporation 公司。

### 1.2 PLGA/姜黄素复合薄膜的制备

#### 1.2.1 纺丝液的制备

以三氯甲烷为溶剂, 称取一定量的 PLGA 并放入盛有三氯甲烷的锥形瓶中, 将混合液放在恒温 (室温) 磁力搅拌器上充分搅拌 5h, 使 PLGA 完全溶解, 即得到 PLGA 质量分数为 10% 的纺丝液。用同样方法制备 PLGA 与姜黄素的混合纺丝液, 其中 PLGA 与姜黄素的质量比依次为 4:1、2:1 和 3:2。

#### 1.2.2 静电纺丝

将注有纺丝液的注射器固定在注射泵上, 调整纺丝管高度与接收板位置, 使喷丝头与接收板的中心基本位于同一水平线上, 调整二者的距离至 12cm。将阳极接在注射器的针头处, 阴极粘在接收屏上, 并在接收屏上放一块大小合适的铝箔。打开注射泵, 设定流量为 0.5mL/h, 在注射泵的推动作用下, 溶液在针头尖端形成半球形液滴。此时打开电源并调整电压至 16kV, 使纺丝液处于稳定的无液滴自然下垂状态, 喷丝口形成稳定的泰勒锥。纺丝液喷射到铝箔上, 得到非织造布状的纳米纤维膜。

### 1.3 纳米纤维膜的性能表征

#### 1.3.1 复合薄膜成分分析

采用 Nicolet Nexus470 型傅里叶红外光谱仪对姜黄素、纯 PLGA 薄膜以及 PLGA/姜黄素复合薄膜的结构进行比较分析。

#### 1.3.2 纳米纤维形貌观察

将纯 PLGA 和不同质量比的 PLGA/姜黄素电纺膜在自然状态下干燥处理, 表面喷金, 用扫描电镜观察纳米纤维的形貌并计算其直径。

#### 1.3.3 活化部分凝血活酶时间 (APTT) 实验

将新鲜人全血 (血液与枸橼酸钠按体积比 9:1 混合) 以 3000r/min 离心 10min, 取 300 $\mu\text{L}$  上层贫血小板血浆 (PPP), 将其与已在 0.9% NaCl 生理盐水中浸泡 2h 的样品 (1cm  $\times$  1cm) 一起于 37 $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴中培养 30min。取培养后的血浆 250 $\mu\text{L}$  与 50 $\mu\text{L}$  APTT 试剂反应 3min, 然后再加入 50 $\mu\text{L}$  浓度为 30mmol/L 的  $\text{CaCl}_2$ , 用凝血仪测定凝血时间, 样品的对照组是空白血浆<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 复合薄膜成分分析

样品的红外分析如图 1 所示, 由图 1 可知, 对于纯 PLGA 电纺膜, 1752 $\text{cm}^{-1}$  为 PLGA 中  $\text{C}=\text{O}$  的特征吸收峰, 而在 1382 $\text{cm}^{-1}$  处出现弱的吸收峰, 出现在 3014 $\text{cm}^{-1}$ 、2935 $\text{cm}^{-1}$  处的强吸收峰是由 PLGA 中大量  $\text{CH}_3$  的变形振动引起的。与纯 PLGA 红外图谱相比, PLGA 与姜黄素质量比为 2:1 的复合薄膜红外图谱中在 1600 $\text{cm}^{-1}$  和 1585 $\text{cm}^{-1}$  处有新吸收峰出现, 这是由姜黄素结构中苯环的骨架变形振动形成的。1509 $\text{cm}^{-1}$  为姜黄素中  $\text{C}=\text{C}$  双键的特征吸收峰, 表明复合薄膜中存在姜黄素。

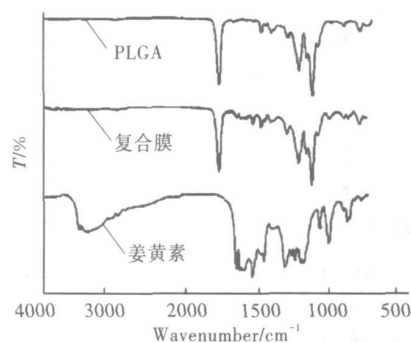


图 1 纯姜黄素、PLGA 薄膜和复合膜的红外谱图

Fig. 1 FTIR spectrum of curcumin, PLGA film and composite films

### 2.2 纳米纤维的形貌观察

图 2 是同一纺丝工艺条件下静电纺纯 PLGA 和不同质量比 PLGA/姜黄素复合纳米纤维的扫描电镜图片, 放大倍数均为 5000。

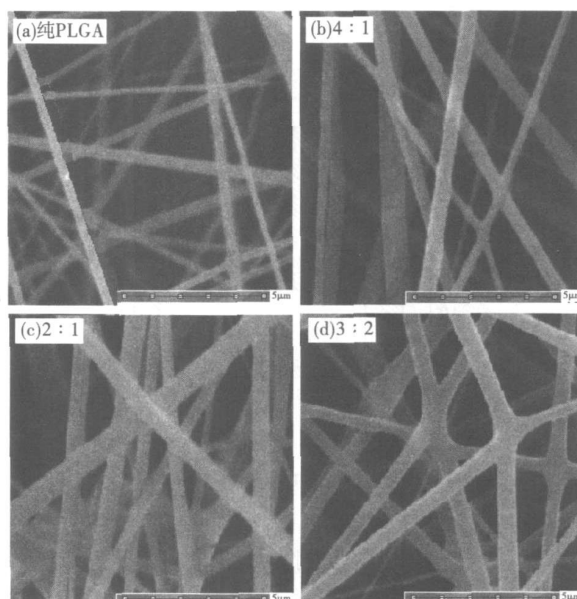


图 2 纯 PLGA 和不同质量比复合薄膜的扫描电镜图

Fig. 2 SEM images of PLGA and different mass ratios composite films

利用 Adobe Photoshop3.0 软件在纤维 SEM 图上取具有代表性的 50 根纤维进行直径测量, 纯 PLGA 和不同质量比 PLGA/ 姜黄素电纺膜的平均直径如表 1 所示。

表 1 纯 PLGA 和不同质量比纳米纤维的直径分布

Table 1 The diameter distribution of PLGA and different mass ratios

纺丝液规格	平均直径/ nm	标准方差
纯 PLGA	369	0.072
4: 1	692	0.129
2: 1	793	0.151
3: 2	795	0.181

从图 2 可以看出, 纯 PLGA 和 PLGA/ 姜黄素复合纳米纤维的直径分布较均匀, 没有明显影响外观的竹节存在, 整体成形较好。纯 PLGA 纳米纤维表面较光滑, 而加了姜黄素的复合纳米纤维的表面较粗糙, 这可能是由姜黄素与 PLGA 的共溶度低造成的, 而且通过观察可以发现, 随姜黄素相对比例的增加, 复合纳米纤维表面的粗糙度呈增大趋势。计算发现随纺丝液中姜黄素相对比例的增大, 纳米纤维的直径增大, 标准方差也稍有增大, 这主要是因为 PLGA 质量分数一定的情况下, 随姜黄素相对比例的增大, 纺丝液的质量分数增大, 射流的充分拉伸变得困难, 因而纳米纤维直径增大。同时随纺丝液质量分数的增大, 射流的不稳定性增大, 纤维直径的标准方差值也增大。

### 2.3 活化部分凝血活酶时间 (APTT) 实验

活化部分凝血活酶时间 (APTT) 检测是在体外模拟内源性凝血的所有条件测定血浆凝固时间的方法, 是检查内源性凝血途径的一种试验<sup>[1]</sup>。图 3 是原血浆和不同质量比 PLGA/ 姜黄素复合纳米纤维膜的活化部分凝血活酶时间测定结果。

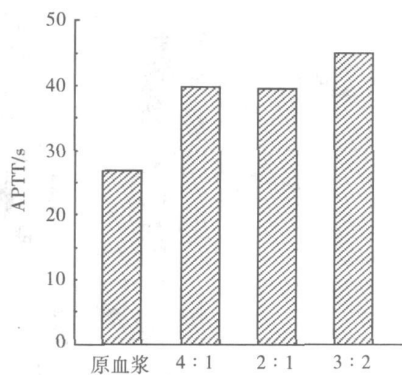


图 3 APTT 实验结果

Fig. 3 The result of APTT test

由实验结果可以看出, 复合薄膜的 APTT 均长于原血浆, 尤其当质量比达到 3: 2 时, APTT 比原血浆延长了 18s 以上。这主要是由于具有抗凝血性质的姜黄素可以与多种凝血激活因子结合, 并抑制这些因子发挥抗凝作用, 从而延长了 APTT<sup>[7]</sup>。由以上结果可以看出, 加入姜黄素的 PLGA 复合体系能在一定程度上抑制内源性凝血系统的激活, 提高

抗凝血性能, 并且在实验浓度范围内, 随姜黄素含量的增加, 复合薄膜的 APTT 呈延长的趋势。

### 3 结论

(1) 在实验范围内, 利用静电纺丝技术可以制备平均直径为 370~ 800nm、均匀性较好的复合纳米纤维。通过 SEM 观察, 其具有较好的可纺性。

(2) 采用 Nicolet Nexus470 型傅里叶红外光谱仪对纯 PLGA 薄膜、姜黄素以及 PLGA/ 姜黄素复合薄膜的结构进行了比较分析, 确定了复合薄膜中确实存在姜黄素。

(3) 活化部分凝血活酶时间实验表明, 姜黄素的加入能在一定程度上抑制内源性凝血系统的激活, 提高抗凝血性能, 并且在实验浓度范围内, 随姜黄素含量的增加, 复合薄膜的 APTT 呈延长趋势, 与原血浆相比延长了 18s。

### 参考文献

- Zou Ke, et al. The progress and application of electrospun nanofibers[J]. Synth Fiber Ind, 2007, 30(3): 54
- Wang Yanchun, Lu Chunmin. The current research and application of electrospun nanofibers in specific areas[J]. Highr techn Fibers, 2006, 31(1): 45
- Cao Yanlin, Yin Jingbo, Yan Shifeng. The modification and application of research of biodegradable polylactic acid[J]. Polym Bull, 2006(1): 90
- Zeng Fang, Wang Wenguang, Xia Bangfu. The research process and application of biodegradable polymer materials[J]. Plast Manuf, 2006(1): 33
- Qi Min, et al. Monte Carlo simulation of poly(lactic glycolic acid) films degraded in simulated body fluid[J]. J Clinical Rehabilitat ive Tissue Eng Res, 2008, 12(6): 1153
- Kwangsok Kim, Luu Yen K, Charles Chang, et al. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly ( lactide α glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds[J]. J Controlled Release, 2004, 98(1): 47
- Chen Hong, Zhang Zhenshu. The research situation of pharmacological effects of curcumin[J]. Int J TCM Volumes, 1996, 18(1): 3
- Wu Bin, et al. The research review of antioxidant properties and antioxidant mechanism of curcumin[J]. J Jiangxi Agricultural University, 2009, 21(1): 121
- Liu Quanwei, Huang Weiyi. The research review of curcumin anti atherosclerosis effects[J]. Cardiovascular Diseases, 2009, 30(1): 176
- Kunnumakara Ajakumar B, Sushovan Guha, et al. Curcumin and colorectal cancer: Add spice to your life[J]. Current Colorectal Cancer Rep, 2009, 5(1): 5
- Tang Jiaju, Wang Jin, Pan Changjiang, et al. The preparation and anticoagulation evaluation of PLGA/ curcumin composite films[J]. J Biomedical Eng, 2008, 25(1): 113
- 李家增, 王鸿利, 韩忠朝. 血液实验学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 68
- Shao Tianbo, et al. The discussion about the activated partial thromboplastin time determination of the diagnosis of hemophilia[J]. Kunming Medical College, 2009(3): 139

(责任编辑 张 竞)