

具有抗凝功能的可交联四臂星形聚己内酯的合成及其电纺丝加工的初步研究

王培境, 耿雪, 叶霖, 张爱英, 冯增国

北京理工大学材料学院, 北京 100081

摘要 采用季戊四醇/辛酸亚锡引发体系通过开环聚合制备了四臂星形聚己内酯。将丙烯酰氯和肝素分别引入到四臂聚己内酯的端基上, 以赋予材料可交联和抗凝性能。采用 GPC、红外、核磁等表征了四臂星形聚己内酯的结构与性能。静态接触角和吸水率测试结果显示接枝肝素后聚己内酯的亲水性明显增强。采用紫外定量表征了肝素化聚己内酯表面的肝素含量, 体外凝血时间的明显延长说明了肝素化后材料具有了抗凝性能。在添加适量光引发剂的情况下用紫外光对含有丙烯酰氯基团的肝素化聚己内酯进行了原位交联, 力学测试表明光照后材料的拉伸强度明显提高。最后对材料通过静电纺丝技术成型管状支架作了初步研究, 表明本文合成的抗凝可交联聚己内酯材料在血管组织工程领域具有良好的应用前景。

关键词 四臂星形聚己内酯; 肝素; 光交联; 静电纺丝

中图分类号 TQ505.4*25

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2009)21-0050-06

Synthesis and Characterization of Cross-link and Anticoagulant Heparinized Four-arm Star-shape Poly(ϵ -caprolactone) and a Preliminary Study on Its Electrospinning

WANG Peijing, GENG Xue, YE Lin, ZHANG Aiying, FENG Zengguo

School of Material Science & Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081

Abstract Four-arm star-shape poly(ϵ -caprolactone)s were prepared by Ring Opening Polymerization(ROP) with pentaerythritol/Stannous octoate as the initiator system. Photocurable and heparinized four-arm star-shape poly(ϵ -caprolactone) (PCL) was synthesized by covalently attaching acryloyl chloride and heparin to the ends of four-arm star-shape poly(ϵ -caprolactone)s. The resulting polyester was also cross-linked under UV light with good mechanical properties. The properties of the four-arm star-shape poly(ϵ -caprolactone)s were tested by using GPC, IR and $^1\text{H-NMR}$. The

results of static contact angle and water absorption show that this heparinized PCL has better hydrophilic quality than its counterpart. The heparin content on the surface of this PCL was characterized by UV. The anticoagulant characteristics in vitro were evidenced by APTT test and the time of APTT test was obviously prolonged. The results of APTT test show that the heparinized material enjoys anticoagulant properties. The resulting polyester may also be cross-linked under UV light by adding an appropriate amount of photo-initiator. The results of mechanical tests show that the tensile strength is improved significantly after the exposure to the UV light. A preliminary study on its electrospinning properties was also carried out. The material can successfully be electrospun into tubular scaffolds with an ultrafine fiber structure. The cross-linked and anticoagulant heparinized four-arm star-shape poly(ϵ -caprolactone) enjoys a good application prospect in the field of vascular tissue engineering.

Keywords four-arm star-shape poly(ϵ -caprolactone); heparin; photocrosslink; electrospinning

0 引言

聚 ϵ -己内酯 (PCL) 具有良好的生物相容性和生物降解性, 是一种被广泛使用和研究的生物医用材料^[1-2]。它是由 ϵ -己内酯 (ϵ -CL) 开环聚合而成的。PCL 可用作药物控释载体,

收稿日期: 2009-07-21

基金项目: 中国高技术研究发展计划(863 计划)项目(2007AA021905); 北京理工大学基础研究基金项目(20080942001)

作者简介: 王培境, 博士研究生, 研究方向为生物医用材料, 电子信箱: wpjsr@163.com; 冯增国(通信作者), 研究员, 研究方向为生物医用材料研究, 电子信箱: sainfeng@bit.edu.cn

组织工程支架材料等。由于 PCL 的初始强度高而且降解速率慢,因此作为可生物降解支架材料可以维持较长时间而不被破坏^[3-4],尤其适合作为血管组织工程支架材料使用。

用于人工血管支架的生物材料不仅需要具有良好的机械性能,而且需要具有优异的血液相容性和组织相容性。目前大口径人工血管(>6 mm)已取得广泛的成功,而小口径人工血管(<6 mm)却一直未获得满意的效果。这是因为小口径人工血管植入后常常会因为血栓形成、新生内膜超常增生、动脉瘤形成、感染等原因导致移植失败^[5]。而采用组织工程技术研制的人工血管通常在移植后需要一段时间才能实现与周围组织的重构,这就需要人工血管支架在体内一段时间内保持足够的力学强度和抗凝性能。因此,同时具备优良的力学性能和良好的血液组织相容性,是人工血管技术突破的关键^[6-7]。

在以前的工作中,本研究小组在线性的聚酯材料两端通过化学连接引入肝素大大提高了材料的体外抗凝性能。另一方面,还发现将丙烯酰氯与端羟基聚酯反应后可借助紫外光原位交联,大大提高材料力学性能。因此,本文拟合成四臂星形聚己内酯,将丙烯酰氯和肝素分别引入其 4 个端基之中,通过光交联后使其同时具有优良的力学性能和良好的抗凝性能。

通过静电纺丝技术所成型出的由纳米到微米级纤维组成的多孔支架,能够模仿细胞外基质的组成和结构,为细胞提供良好的生长环境,从而在组织工程领域得到了广泛应用^[8-10]。本文的抗凝可交联聚己内酯材料要想成功地在组织工程人工血管领域得到应用,其首先应该可以被静电纺技术加工成型管状支架。因此,还对材料的静电纺丝加工进行了初步研究。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

季戊四醇,分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心,110℃真空烘箱中干燥 24 h 后置于干燥器中保存待用; ϵ -CL,纯度 99%,Acros 公司,用氯化钙浸泡 24 h,减压蒸馏后待用;丙烯酰氯(Acryloyl Chloride,AC),Alfa 公司;肝素钠,分子量 5 000~20 000 kD,北京世纪中威科技发展有限公司;辛酸亚锡,纯度 95%,1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)和 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),Sigma 公司;2,2-二甲氧基二苯基苯乙酮(DMPA),Fluka 公司;甲苯胺蓝、三乙胺,北京化学试剂公司;四氢呋喃、二氯甲烷、正己烷,分析纯,天津韦斯化学有限公司;部分凝血活酶时间(Activated Partialthromboplastin Time,APTT)试剂盒,上海太阳生物试剂公司。

凝胶渗透色谱(Gel Permeation Chromatography,GPC)分析采用 Waters 凝胶色谱仪(Waters 1515 HPLC 泵和 Waters 2414 RI 检测器),聚苯乙烯作标样,四氢呋喃为流动相,35℃检测,流速 1 mL/min;¹H-NMR 采用 Bruker ARX 400 核磁仪测定,以 CDCl₃-D₆ 作溶剂,四甲基硅烷为内标;FTIR 测试采

用 Shimadzu IR Prestige-21 型红外光谱仪,KBr 压片;利用 Hitachi U-2800 型紫外分光光度计进行肝素化共聚酯表面肝素含量的测定。静态接触角测定采用上海中晨数字技术设备有限公司 JC2000C1 静滴接触角/界面张力测量仪;凝血实验仪器采用 TECHROM IV plus 半自动四通道凝血仪;电纺丝装置自制,由接收装置、高压发生器(北京机电院 BGG 40 kV/2 MA)和包括注射器、针头和注射泵(保定兰格公司 TS2-60)在内的供料装置等组成;拉力测试采用长春产的 WD4005 型拉力测试仪。

1.2 抗凝的可交联四臂星形聚己内酯的合成

经丙烯酰氯改性以及肝素化后的四臂星形聚己内酯用 4s-PEPCL_xAH 表示,其中 4s 表示四臂星形,PE 表示季戊四醇引发, x 表示按照投料比计算单臂上有 x 个己内酯单元,A 表示通过丙烯酰氯改性,H 表示肝素化后。以 4s-PEPCL₂₀₀AH 为例,具体合成步骤如下。

将计算好的 ϵ -己内酯(9.701 9 g)、季戊四醇(0.014 5 g)以及辛酸亚锡(0.172 2 g)置于安培瓶中,反复抽真空通氮气 5 次后继续抽真空 1 h,在真空下用酒精喷灯封管。将封好的安培瓶置于 137℃下反应 24 h。反应结束后敲破安培瓶,用氯仿溶解聚合物,过量甲醇沉淀,反复 3 次得到白色的四臂星形聚己内酯,真空烘干至恒重^[11-13]。取一定量(4.0 g)得到的四臂星形聚己内酯溶于四氢呋喃(25 mL)中,在冰水浴中滴加溶于四氢呋喃(5 mL)的丙烯酰氯(0.014 6 g)和质子碱三乙胺(0.016 4 g)^[14],常温搅拌 4 h 以上。将所得物质过滤,得到溶液。所得溶液用甲醇沉淀数次,得白色产物,烘干至恒重待用。将肝素(0.808 7 g)溶于水(5 mL)中,待肝素溶解后,加入 EDCI(0.064 4 g)和 NHS(0.038 8 g)进行活化,在冰水浴中活化 1 h。随后,将活化好的肝素滴加到溶于四氢呋喃(50 mL)的经丙烯酰氯改性后的聚酯中,反应 24 h。所得液体通过旋转蒸发除去四氢呋喃,后溶于二氯甲烷,得到分层的液体,分液得下层液。用无水硫酸镁干燥静置 5 h 以上。过滤后将所得液旋转蒸发,置于真空烘箱室温干燥 24 h,得到白色固体。取经丙烯酰氯改性以及肝素化后的四臂星形聚己内酯 0.5 g,添加 DMPA,溶于 10 mL 的二氯甲烷溶剂中。等待溶剂自然挥发后,放入真空烘箱中室温抽真空干燥 24 h,随后放在紫外光(315~380 nm)下光照,样品与紫外灯相距 10 cm,光照 30 min,使其交联。

1.3 抗凝的可交联四臂星形聚己内酯的表征

将 0.5 g 4s-PEPCL_xAH 和 0.5 g 4s-PEPCL_x 各自溶于 10 mL 二氯甲烷溶液中,流延成膜,真空干燥后用于测试的膜状样品。

紫外测试:裁出表面积为 1 cm² 的肝素化后聚酯膜状样品,将其置于 2 mL 的 0.02% NaCl 溶液中,随后加入 2 mL 的甲苯胺蓝溶液,恒温 37℃振荡 30 min,再加入 3 mL 正己烷,再次振荡 10 min,取下层液用紫外分光光度计测定其在 631 nm 处的吸光度。预先配置不同肝素含量的肝素氯化钠溶液,通过上述方法测定各自的吸光度,建立吸光度与肝素含量的

标准工作曲线。由标准工作曲线得到样品表面肝素含量。

吸水率 (water absorption): 取一定量肝素化后的聚酯和未肝素化的聚酯, 在 1.5 mL 水中浸泡 2 d, 取出, 擦干表面的水, 称重。吸水率 = (取出后的质量/原质量 - 1) × 100%, 每个样品平行测量 3 次取平均值。

静态接触角: 实验采用量角法计算亲水角。取膜状肝素化后的聚酯和未肝素化的聚酯, 在其表面滴去离子水, 立即拍照, 每个样品平行测量 3 次取平均值。

部分凝血活酶时间 (APTT): 凝血时间实验的血液采自健康人群, 加枸橼酸钠 (1:9) 制备所得到的血浆。待测膜状样品剪成合适的尺寸, 贴附在四联比色杯的底部, 测定部分凝血活酶时间凝血时间。

凝胶分数 (gel fraction): 选取改性过的聚酯 0.5 g, 分别加入 0%、0.5%、0.8%、1.0%、1.5% (质量分数) 的 DMAP, 溶于 10 mL 二氯甲烷溶剂, 流延成膜, 真空干燥得到用于测试的膜状样品。光照 0.5 h。称取一定质量 (0.03 g 左右) 的膜放入二氯甲烷中溶胀, 2 d 后取出剩余未溶解部分, 烘干后称量。

凝胶分数 = 样品剩余质量 / 样品原质量 × 100%

力学测试: 膜状样品的制备与凝胶分数测试时相同, 样品制作成哑铃型, 拉伸性能的测试, 采用 WD4005 型拉力测

试仪, 最大拉力为 2 kN, 横梁拉伸速率为 100 mm/min, 结果取 5 个试样的均值。

1.4 抗凝的可交联四臂星形聚己内酯的静电纺丝

以二氯甲烷作为溶剂, 配置不同浓度的改性后聚酯的纺丝液, 通过高压静电纺丝, 纺丝条件为: 电压 15 kV, 纺丝距离 23 cm, 纺丝接收板与地接触良好。

2 结果与讨论

2.1 抗凝的可交联四臂星形聚己内酯的合成

四臂星形聚己内酯的合成路线见图 1。为了使得合成的聚己内酯具有可交联及抗凝血的性能, 因此在聚己内酯上引入双键以及肝素, 由于可交联性能需要至少两臂上存在双键, 因此先引入双键, 控制上链量, 并且留出至少一臂用于与肝素的反应。

首先合成 4s-PCL。所合成的 4s-PCL 的分子量和分子量分布可通过 GPC 进行测定, 图 2 为 GPC 分析结果, 数据如表 1 所示。图 2 中不同投料比得到聚合物的 GPC 谱图均为对称的单峰, 说明成功通过开环聚合制备了四臂 PCL。由表 1 可知, 随着己内酯投料比的增多, 分子量呈现上升的趋势, 由此可得通过改变投料比来改变聚酯的分子量是可行的。表 1 同

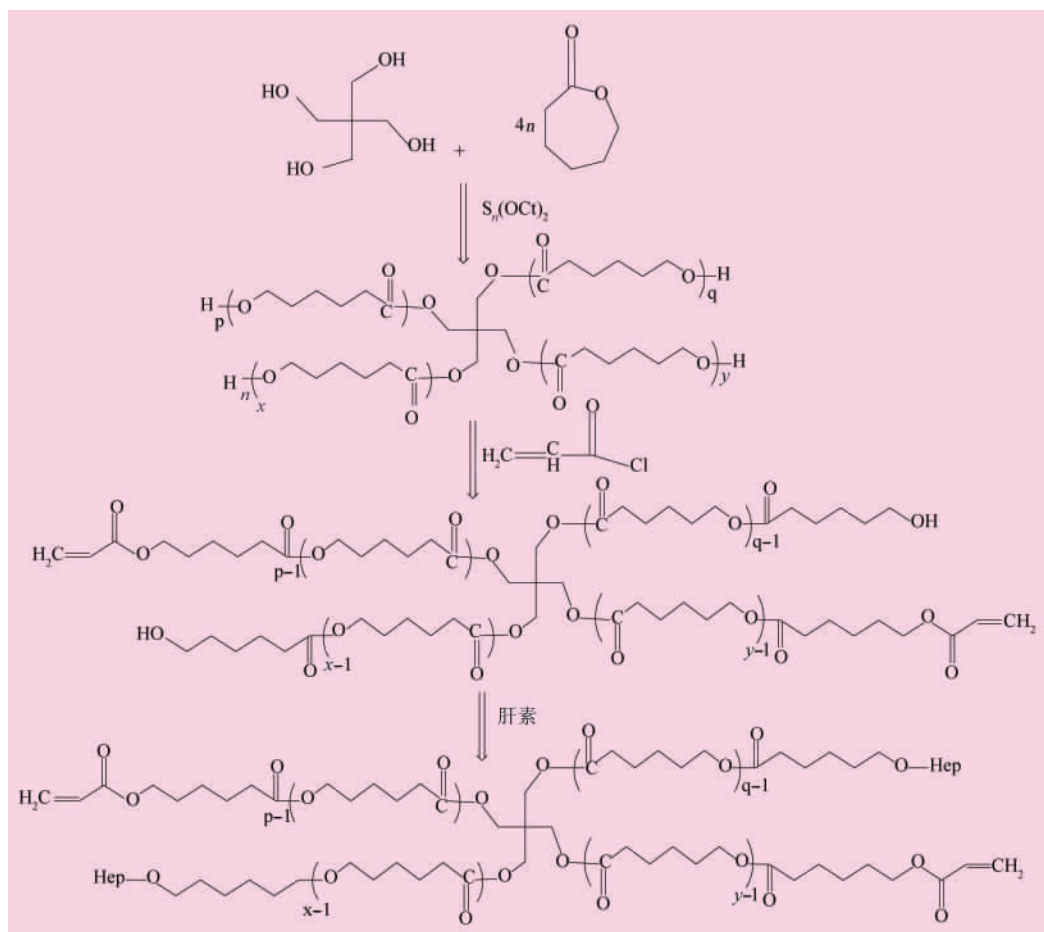


图 1 四臂星形聚己内酯的合成路线示意

Fig. 1 Synthetic strategy for 4s-PEPCLAH

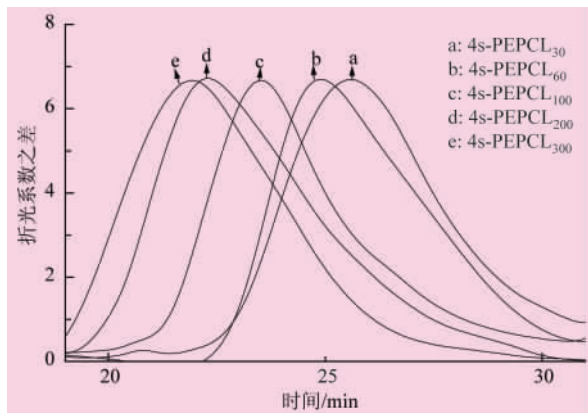


图2 4s-PCL GPC 测试曲线
Fig. 2 Gel permeation chromatography curves

时给出了核磁计算得出的分子量,主要通过对核磁谱图中主峰(图3中的i峰)和与羟基相连的—CH₂(图3中的a峰)的面积积分比计算得到,即

$$\text{核磁所得分子量} = \left(\frac{i \text{ 峰的面积积分}}{a \text{ 峰的面积积分}} \right) \times M(\text{CL}) \times 4$$

式中 $M(\text{CL})$ 为单体己内酯的分子量。从表1可以看出,通过GPC得到的分子量与核磁计算得到的分子量有出入,这是由于GPC是通过体积排除法得到分子量的,用体积排除法得到的分子量适用于直链的状态,由于所合成的聚己内酯是四臂星形结构的,因此对四臂结构来说,GPC得出的分子量不一定准确,用于显示分子量随着投料的增加而增加的趋势,结果与核磁会存在差异。

要实现可交联和抗凝性能这样的目标,传统思路是应该

表1 聚酯的分子量及分子量分布
Table 1 Molecular weight and polydispersity of polyesters

名称	$M_n^a (\times 10^{-4})$	$M_w^b (\times 10^{-4})$	分子量分布	$M_n^a (\times 10^{-4})$	M/I
4s-PEPCL ₃₀	1.87	2.45	1.38	1.31	120
4s-PEPCL ₆₀	2.06	2.82	1.37	2.00	240
4s-PEPCL ₁₀₀	3.38	5.20	1.54	3.12	400
4s-PEPCL ₂₀₀	4.43	8.06	1.82	4.24	800
4s-PEPCL ₃₀₀	5.77	9.98	1.73	NA	1 200

注: M_n 为数均相对摩尔分子质量;上角a为 M_n 由氢谱核磁测得,b为 M_n 由GPC测得;NA为不可测; M_w 为重均相对摩尔分子质量; M/I 为理论单体与引发剂的摩尔比。

Notes: M_n , relative molar number average molecular weight; a, M_n measured by $^1\text{H-NMR}$; b, M_n measured by GPC; NA, Not available; M_w , relative molar weight average molecular weight; M/I , theoretical molar ratio of monomer and initiator.

将拟与肝素反应的端羟基保护起来。但对四臂PCL来说,其各个端基的活性是一样的,所以要实现保护4个端羟基中的1个或2个羟基是很困难。丙烯酰氯是很活泼的反应试剂,其酯化反应的反应程度很高,因此可以考虑通过控制丙烯酰氯的用量来控制其只与4个端羟基中2个或者最多3个羟基反应。由于GPC和NMR测得的PCL的分子量都存在一定误差,本研究小组采用了先添加过量的丙烯酰氯将所有羟基酰化,通过NMR计算出全酰化PCL所需丙烯酰氯用量,然后将此用量减半,就是将两个或者最多3个羟基酰化所需要的半酰化用量。

图3中,(a)为全酰化核磁图,(b)为半酰化核磁图。从图中可以得到,丙烯酰氯在化学位移 $\delta=5.59, 6.05, 6.27$ (f,g,h)处的特征峰,通过面积积分,计算得出,全酰化的聚酯上平均每个聚己内酯上连接有3.5个双键,半酰化的聚酯上平均每个聚己内酯上连接有2.0个双键。由此证实该方法可行。

2.2 抗凝的可交联四臂星形聚己内酯的表征

图4为红外谱图,可以看到,图4(b)中在 $3\,500\text{ cm}^{-1}$ 附近有一OH的伸缩振动峰,与图4(a)图相比明显增强,这是由于肝素上含有大量的—OH所致。而在 $1\,645\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,250\text{ cm}^{-1}$ 处出现的新的峰分别为肝素中胺基(N—H)峰和磺酸基

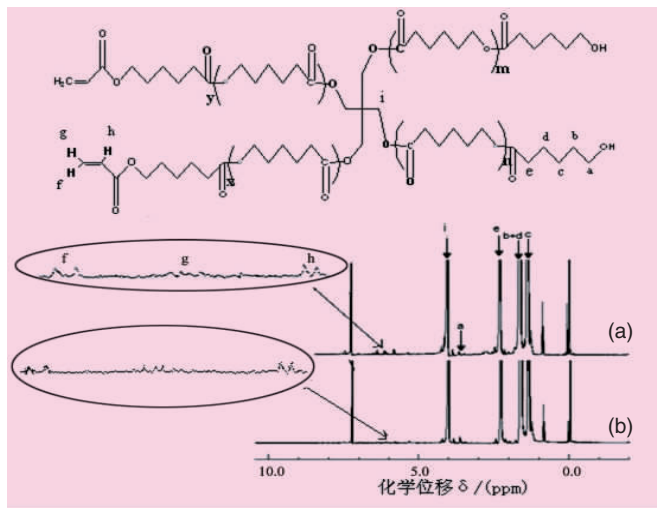


图3 4s-PEPCL₆₀ AQ(a)和4s-PEPCL₆₀A(b)核磁图
Fig. 3 $^1\text{H-NMR}$ spectra of 4s-PEPCL₆₀ AQ (a) and 4s-PEPCL₆₀A (b)

(—SO₃)的特征峰。末端—C—H在 $3\,085\text{ cm}^{-1}$ 附近出现的伸缩振动峰与—OH的峰重合,从指纹区, 910 cm^{-1} 可以指认到双键的特征峰,说明C=C双键的存在。

的肝素化四臂 PCL 也可以在紫外光下实现原位交联。且紫外光交联以后,材料力学性能大大提高。

表 3 聚酯的拉伸强度以及静态接触角
Table 3 Tensile strength and gel fraction of polyesters

样品	拉伸强度/MPa	凝胶分数/%
4s-PEPCL ₃₀₀ AH, 0%	10.8±0.5	无需测试
4s-PEPCL ₃₀₀ AH, 0%, 光照 30 min	11.7±0.6	48.1±1.0
4s-PEPCL ₃₀₀ AH, 0.5%, 光照 30 min	12.1±0.8	66.4±0.8
4s-PEPCL ₃₀₀ AH, 0.8%, 光照 30 min	12.6±0.4	66.7±1.2
4s-PEPCL ₃₀₀ AH, 1.0%, 光照 30 min	11.9±0.7	64.8±0.7
4s-PEPCL ₃₀₀ AH, 1.5%, 光照 30 min	14.5±0.4	81.1±0.6

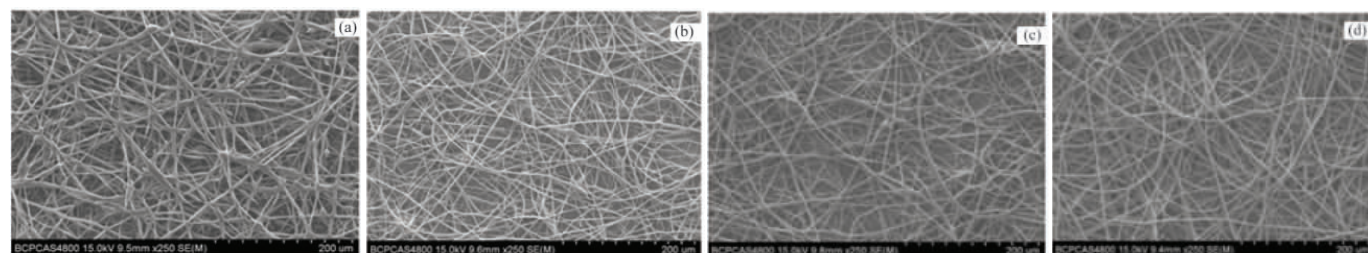


图 6 4s-PEPCL₃₀₀AH 电纺丝扫描电镜图

Fig. 6 SEM micrographs of 4s-PEPCL₃₀₀AH ultrafine fibers

3 结论

以辛酸亚锡为催化剂,季戊四醇为引发剂,制备出四臂星形聚己内酯。经过丙烯酰氯改性以及肝素化后,紫外光原位交联以后材料力学性能可大为增加,同时体外抗凝实验结果显示出材料具有一定的抗凝性。采用高压静电纺丝可得到直径在微米级别的超细纤维。本文所合成的抗凝可交联四臂PCL材料具有用作组织工程血管支架材料的潜在价值。

参考文献 (References)

- [1] 谢长琼, 周元林, 马佳俊. 聚己内酯改性研究进展[J]. 塑料科技, 2009, 37(4): 100-104.
Xie Changqiong, Zhou Yuanlin, Ma Jiajun. *Plastics Science and Technology*, 2009, 37(4): 100-104.
- [2] 李佳, 郑玉峰. 医用聚 ϵ -己内酯的合成及热行为研究 [J]. 中国科技论文在线, 2009, 4(4): 274-278.
Li Jia, Zheng Yufeng. *Sciencepaper Online*, 2009, 4(4): 274-278.
- [3] 王永亮, 易国斌, 康正, 等. 聚己内酯的合成与应用研究进展[J]. 化学与生物工程, 2006, 23(3): 1-3.
Wang Yongliang, Yi Guobin, Kang Zheng, *et al.* *Chemistry & Bioengineering*, 2006, 23(3): 1-3.
- [4] 艾合麦提·玉素甫, 王振斌, 朱良. 可生物降解材料聚己内酯在医学上的应用进展[J]. 国外医学生物医学工程分册, 2005, 28(1): 19-23.
Yusup Ahmat, Wang Zhenbin, Zhu Liang. *Foreign Medical Biomedical Engineering Fascicle*, 2005, 28(1): 19-23.
- [5] 邵 任, 任为. 组织工程血管的研究进展 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(23): 4503-4506.
Tai Di, Ren Wei. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2008, 12(23): 4503-4506.
- [6] 唐朝君, 王贵学, 危当恒, 等. 小口径人工血管研究的进展 [J]. 中国医疗器械杂志, 2005, 29(6): 439-442.

2.5 抗凝的可交联四臂星形聚己内酯的静电纺丝研究

用静电纺丝技术加工小口径组织工程管状支架被认为是一种有效的方法^[16-17]。在上面的测试中,本文合成的肝素化的可交联 PCL 显示出既具有优良的抗凝性能,又可以在紫外光下实现原位交联来提高力学性能。因此,如果这一材料还可以被电纺成型的话,就可以采用首先将其电纺成型为管状支架,然后再以紫外原位交联的路线制备基于这一材料的组织工程血管支架。图 6 是肝素化的可交联 PCL 电纺丝的 SEM 照片,其中图(a)、(b)、(c)、(d)的纺丝液浓度分别为 21、23、25 和 28 g/mL。可以看出,图 6(a)中丝比较粗而且有珠串存在,图 6(b)中珠串减少,图 6(c)中珠串几乎消失且丝的粗细比较均匀,图 6(d)中珠串消失,且丝的形貌均匀。随着纺丝液浓度的增加,丝的形貌越来越均匀。丝的直径约为 2.5 μm 。由此得出用静电纺丝技术对该材料加工成型是可行的。

- Tang Chaojun, Wang Guixue, Wei Dangheng, *et al. Chinese Journal of Medical Instrumentation*, 2005, 29(6): 439-442.
- [7] 夏成勇. 小口径人工血管表面改性研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(9): 718-720.
Xia Chengyong. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*, 2007, 15(9): 718-720.
- [8] 王德诚. 静电纺丝的技术进展[J]. 合成纤维工业, 2009, 32(2): 42-44.
Wang Decheng. *China Synthetic Fiber Industry*, 2009, 32(2): 42-44.
- [9] 王曙东. 静电纺丝素-明胶管状支架的结构与性能 [J]. 丝绸, 2009, 30(6): 6-9.
Wang Shudong. *Silk*, 2009, 30(6): 6-9.
- [10] Agarwal S, Wendorff J H, Greiner A. Use of electrospinning technique for biomedical applications[J]. *Polymer*, 2008, 49: 5603-5621.
- [11] 罗玉芬, 汪朝阳, 宋秀美, 等. 以季戊四醇为核的星形聚(D,L-乳酸)的合成与表征[J]. 合成化学, 2008, 16(2): 166-169.
Luo Yufen, Wang Chaoyang, Song Xiumei, *et al. Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2008, 16(2): 166-169.
- [12] 马建华. L-乳酸 _ 季戊四醇星形聚合物的合成与表征 [J]. 精细与专用化学品, 2006, 14(9): 19-22.
Ma Jianhua. *Fine and Specialty Chemicals*, 2006, 14(9): 19-22.
- [13] Aryal S, Prabakaran M, Pilla S, *et al.* Biodegradable and biocompatible multi -arm star amphiphilic block copolymer as a carrier for hydrophobic drug delivery [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009: 1-7.
- [14] Kweon H Y, Yoo M K, Park I K. A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2003, 24:801-808.
- [15] Smith P K, Mallia A K, Hermanson G T. Colorimetric method for the assay of heparin content in immobilized heparin preparations [J]. *Anal Biochem*, 1980, 109: 466-473.
- [16] Lannutti J, Reneker D, Ma T, *et al.* Electrospinning for tissue engineering scaffolds[J]. *Materials Science and Engineering*, 2007: 504-509.
- [17] Sill T J, von Recum H A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2008, 29: 1989-2006.

(责任编辑 王芷)