

• 药剂与工艺 •

Box-Behnken 响应面法优化白及多糖/聚乙烯醇湿法纺丝工艺及纤维性能评价

杨 凯, 马子豪[#], 李 源, 高元平, 杨 晓, 曾 锐, 张吉仲*, 何 欣, 王怡晗
西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

摘 要: **目的** 采用 Box-Behnken 响应面法优化白及多糖(BSP)/聚乙烯醇(PVA)湿法纺丝工艺, 制备复合纤维, 并进行结构表征及性能评价。**方法** 以纤维的断裂强力、断裂强度和断裂伸长率 3 个力学性能数据的总评归一值为评价指标, 对 BSP 质量分数、PVA 质量分数、BSP/PVA 体积混合比、凝固时间和纺丝速度 5 个因素进行单因素考察。在单因素考察的基础上, 对 BSP 质量分数、BSP/PVA 体积混合比和凝固时间 3 个因素进行响应面设计, 优化 BSP/PVA 复合纤维的纺丝工艺。通过扫描电子显微镜、红外光谱、差示量热扫描、吸湿性测试, 表征和分析纤维的形貌与结构、热学性能、吸湿性能。以盐酸小檗碱(BH)作为模型药物, 评价复合纤维的载药性能及载药纤维的抗菌活性。**结果** 最佳纺丝工艺为 BSP 质量分数 7.5%, BSP/PVA 体积混合比 1:1, 凝固时间 3 min。复合纤维的表面致密, 内部形成三维网状结构, 产生分子间作用力, 热/力学性能增强, 吸湿性能表现优良。复合纤维载药包封率达 70.2%, 载药纤维在抑菌圈测试中形成明显的抑菌圈, 对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌具有良好的抑菌效果。**结论** 优化的纺丝工艺可行、成本低廉, 制备的 BSP/PVA 复合纤维具有较好的物理性能, 且具有一定包载能力, 其在生物医用纺织品领域的应用值得进一步研究。

关键词: 白及多糖; 复合纤维; Box-Behnken 设计; 响应面法; 药辅合一; 抗菌; 盐酸小檗碱; 湿法纺丝

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)14-3645-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.14.006

Box-Behnken response surface method optimized BSP/PVA wet spinning process and fiber performance evaluation

YANG Kai, MA Zi-hao, LI Yuan, GAO Yuan-ping, YANG Xiao, ZENG Rui, ZHANG Ji-zhong, HE Xin, WANG Yi-han

School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: **Objective** To optimize *Bletilla striata* polysaccharide (BSP)/polyvinylalcohol (PVA) wet spinning process by Box-Behnken response surface method and prepare the composite fiber and performe their structural characterization and performance evaluation. **Methods** Taking the OD value of three types of mechanical property data (breaking force, breaking strength and elongation at break) of the fiber as the evaluation index, five factors (BSP mass fraction, PVA mass fraction, volumetric mix ratio of BSP/PVA, coagulation time and spinning speed) were investigated by single factor experiments. On the basis of the results of single factor experiments, three factors (BSP mass fraction, volumetric mix ratio of BSP/PVA, coagulation time) were investigated by response surface method to optimize BSP/PVA composite fiber wet spinning process. The morphology, structure, thermal property, and absorption property of the fibers were characterized and analyzed by SEM, IR, DSC, and water absorption test. Berberine hydrochloride (BH) was used as model drug to evaluate the drug loading property of the composite fiber and antibacterial activity of the drug loading fiber. **Results** The optimal spinning process of composite fiber were as follows: BSP mass fraction was 7.5%, volume

收稿日期: 2020-03-11

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1700705); 四川省留学人员科技活动项目择优资助经费计划(2018-68); 四川省重点研发计划(2019YFS0174); 西南民族大学国家级大学生创新项目(S201910656059)

作者简介: 杨 凯(1997—), 硕士研究生, 主要从事中药基础理论与应用研究。Tel: 17883692917 E-mail: ykai@stu.swun.edu.cn

***通信作者** 张吉仲, 副教授, 主要从事中药及民族药研究。Tel: (028)85524626 E-mail: daowen2005@126.com

#共同第一作者 马子豪(1997—), 硕士研究生, 主要从事中药制剂炮制研究。Tel: 15528229667 E-mail: mazihaio@stu.swun.edu.cn

mixing ratio of BSP/PVA was 1 : 1 and coagulation time was 3 min. The composite fiber had a dense surface and formed a three-dimensional network structure inside, generated intermolecular forces, which enhanced the thermal and mechanical properties, and exhibited excellent water absorption capacity. The encapsulation efficiency of the composite fiber reached 70.2%. And the drug loading fiber formed obvious inhibition zone in the bacteriostatic zone test, which presented excellent antibacterial effect against *E. coli* and *S. aureus*. **Conclusion** The optimized spinning process is feasible and low cost. The prepared composite fiber has better physical property and certain coating ability, and its application in the field of biomedical textiles is worth further study.

Key words: *Bletilla striata* polysaccharide; composite fibers; Box-Behnken design; response surface methodology; unification of medicines and excipients; antibacterial; berberine hydrochloride; wet spinning

白及多糖 (*Bletilla striata* polysaccharide, BSP) 是从兰科白及属植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的块茎中提取的一种中性多糖, 由甘露糖和葡萄糖以 2.4 : 1 的比例组成, 具有抗炎、促进凝血、增强巨噬细胞免疫能力和抗氧化等生物学活性^[1-2]。白及是传统中药中的止血要药, 首载于《神农本草经》, 后为历代《中国药典》收载, 具有收敛止血、消肿生肌的作用, 用于吐血、咯血、疮疡肿毒和创伤出血等症^[3-4]。

BSP 作为白及的主要止血成分, 具有良好的生物相容性、黏附性、自身可降解性、无毒副作用等特点。近年来, BSP 在药物递送系统和新型生物材料方面的研究报道较多, 如开发为脂质体、胶束^[5]、纳米粒、微球^[6]、微针、水凝胶^[7]和薄膜^[8]等; 制备成止血海绵、伤口敷料、组织支架等^[9-11], 在药物制剂及创面敷料领域展现广阔的应用前景。

BSP 通过湿法纺丝可制备为纤维^[12], 但由于其力学性能较差而限制了应用, 故研究报道较少。聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 是一种含多羟基的亲水性聚合物, 具有生物降解性和生物亲和性, 为良好的生物医用高分子材料。PVA 可用于改善 BSP 纤维制品的力学性能, 扩大 BSP 的应用范围。

本实验拟基于单因素考察和响应面设计优化 BSP/PVA 湿法纺丝工艺, 并研究复合纤维的形貌结构和性能。同时以复合纤维作为药物载体, 以具有抗菌作用的盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride, BH) 作为模型药物, 制备包载 BH 的药物纤维, 并对其抗菌活性进行评价。期望基于“药辅合一”的中药药剂设计理论^[13], 开发一种对环境友好且稳定可靠的纺丝制备工艺, 制备一种新型的基于 BSP 的复合纤维。

1 仪器与材料

MP-01 湿法小型纺丝机, 单通道, 注射流量 1~50 mL, 速度 0.01~12.50 mm/min, 推力 >50 N, 四川大学轻纺与食品学院功能纤维研发室; YM061 电

子单纱强力仪, 莱州元茂仪器有限公司; JSM-7500F 场发射扫描电子显微镜 (SEM), 日本 JEOL 公司; ESJ200-4 型万分之一电子天平, 沈阳龙腾电子有限公司; UV 2400 紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司。

BSP, 实验室自制, 制备方法参见文献报道^[1]; BH, 批号 B139120, 质量分数 ≥98%, 阿拉丁试剂公司; PVA1799 型、牛肉膏、蛋白胨、氯化钠、琼脂均为分析纯, 成都恒力试剂公司。

2 方法与结果

2.1 纺丝原液与复合纤维的制备

2.1.1 纺丝原液的制备 将 BSP 粉末溶解于热水中, 在 70 °C 用磁力搅拌器搅拌 1 h, 直至完全溶解, 制得一系列不同质量分数的 BSP 纺丝原液; 将 PVA 块体溶解在热水中, 在 95 °C 用磁力搅拌器搅拌 2 h, 直至完全溶解, 制得一系列不同质量分数的 PVA 纺丝原液。BSP 与 PVA 溶液按体积比例共混制得复合纺丝原液, 静置脱气泡处理后待用。

2.1.2 湿法纺丝工艺 通过湿法纺丝设备, 在恒定推力作用下, 经注射器将脱气泡处理后的纺丝原液挤入内径为 0.55 mm 的纺丝针头, 随后牵丝进入乙醇凝固浴凝固, 再经导丝辊、干燥辊、卷绕辊卷绕处理制得。

2.1.3 纤维的制备 按上述湿法纺丝工艺, 取质量分数为 7.5% 的 BSP 纺丝原液, 制备 BSP 纤维 (BF); 将 BSP 纺丝原液与 PVA 纺丝原液按比例共混, 制备复合纤维 (BP); 取 BH 粉末加入复合纺丝原液中, 制备质量分数为 1% 的 BH 药物纤维 (B-BP)。

2.2 单因素实验

初始条件: BSP 质量分数 5%, PVA 质量分数 15%, BSP/PVA 体积混合比 3 : 1, 纺丝速度 1.5 mm/min, 凝固时间 2 min。

2.2.1 BSP 质量分数对总评归一值 (OD) 的影响 在湿法纺丝的过程中, 固定其余条件, 分别取质量分数为 3.0%、4.5%、6.0%、7.5%、9.0% 的 BSP 纺

丝原液配制复合纺丝原液,考察不同质量分数的 BSP 对复合纤维的断裂强力、断裂强度、断裂伸长率数据的 OD 值的影响,上述力学性能测试方法见“2.4.3”项下。OD 值的计算采用 Hassan 方法对各指标成分的含量进行标准化转换,使其表示为 0~1 的归一值 (d), $d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ 。其中, Y_i 为实测值, $Y_{\min}$ 和 $Y_{\max}$ 分别指每一指标在不同次试验中测得的所有值中的最小值和最大值。根据公式 $OD = (d_1 d_2 d_3 \cdots d_k)^{1/k}$ (k 为指标数) 求得 OD 值^[14]。由表 1 可知, OD 值随 BSP 质量分数的增加而升高, BSP 质量分数达到 7.5% 之后, OD 值开始下降。因此在 Box-Behnken 试验优化设计中, BSP 质量分数的选取范围是 6.0%~9.0%。

2.2.2 PVA 质量分数对 OD 值的影响 在湿法纺丝的过程中,固定其余条件,分别取质量分数为 12%、13%、14%、15%、16% 的 PVA 纺丝原液配制复合纺丝原液,考察不同质量分数的 PVA 对复合纤维的断裂强力、断裂强度、断裂伸长率数据的 OD 值的影响。由表 2 可知, OD 值随 PVA 的质量分数的增加而升高, PVA 质量分数为 15%、16% 时为最大值。考虑到 PVA 质量分数为 15% 和 16% 时,对 OD 值的影响差异很小,故确定 PVA 的质量分数为 15%。

2.2.3 BSP/PVA 体积混合比对 OD 值的影响 固定其余条件,分别将 BSP 纺丝原液与 PVA 纺丝原液

按 3:1、3:2、1:1、3:4、3:5 的体积比进行共混,静置脱气泡后进行湿法纺丝,考察 BSP/PVA 体积混合比对复合纤维的断裂强力、断裂强度、断裂伸长率数据的 OD 值的影响。由表 3 可知, OD 值随 PVA 在 BSP/PVA 纺丝原液中的占比增大而升高,在 BSP/PVA 体积混合比为 1:1 时到达最大值,随后下降。因此,体积混合比的水平选取 3:2、1:1、3:4 进行后续的 Box-Behnken 试验考察。

表 3 BSP/PVA 体积混合比对 OD 值的影响

Table 3 Effect of volumetric mixture ratio of BSP/PVA spinning solution on OD value

BSP/PVA 体积混合比	断裂强 力/cN	断裂强度/ (cN·Tex ⁻¹)	断裂伸 长率/%	OD 值
3:1	62.44	1.082	56.24	0.21
3:2	65.83	1.094	58.64	0.34
1:1	72.36	1.206	75.23	1.00
3:4	68.81	1.117	62.06	0.51
3:5	58.57	1.057	51.29	0.00

2.2.4 纺丝速度对 OD 值的影响 在湿法纺丝的过程中取定量纺丝原液,固定其余条件,通过改变纺丝速度,考察不同纺丝速度 1.4、1.6、1.8、2.0、2.2 mm/min 对复合纤维的断裂强力、断裂强度、断裂伸长率数据的 OD 值的影响。由表 4 可知, OD 值随纺丝速度的增大而升高,在 2.0 mm/min 时达到最大值。随后变化对 OD 值影响很小,故确定纺丝速度为 2.0 mm/min。

2.2.5 凝固时间对 OD 值的影响 在湿法纺丝的过程中取定量纺丝原液,固定其余条件,通过调整纺丝原液在凝固浴的凝固时间,考察不同凝固时间 1、2、3、4、5 min 对复合纤维的断裂强力、断裂强度、断裂伸长率数据的 OD 值的影响。由表 5 可知, OD 值随凝固时间的增大而升高,凝固 3 min 之后, OD 值开始下降。因此在进一步的 Box-Behnken 试验优

表 1 BSP 质量分数对 OD 值的影响

Table 1 Effect of BSP mass fraction on OD value

BSP/%	断裂强 力/cN	断裂强度/ (cN·Tex ⁻¹)	断裂伸 长率/%	OD 值
3.0	60.84	1.075	55.94	0.00
4.5	61.86	1.076	56.08	0.08
6.0	63.25	1.094	56.83	0.54
7.5	65.27	1.098	58.46	1.00
9.0	63.08	1.084	56.92	0.43

表 2 PVA 质量分数对 OD 值的影响

Table 2 Effect of PVA mass fraction on OD value

PVA/%	断裂强 力/cN	断裂强度/ (cN·Tex ⁻¹)	断裂伸 长率/%	OD 值
12	61.84	1.062	55.24	0.00
13	62.07	1.069	55.78	0.40
14	62.23	1.077	55.94	0.67
15	62.44	1.082	56.24	0.95
16	62.35	1.084	56.29	0.95

表 4 纺丝速度对 OD 值的影响

Table 4 Effect of spinning speed on OD value

纺丝速度/ (mm·min ⁻¹)	断裂强 力/cN	断裂强度/ (cN·Tex ⁻¹)	断裂伸 长率/%	OD 值
1.4	62.47	1.084	56.49	0.00
1.6	62.49	1.086	56.52	0.28
1.8	62.52	1.087	56.59	0.65
2.0	62.58	1.088	56.55	0.78
2.2	62.55	1.089	56.55	0.76

表 5 凝固时间对 OD 值的影响

Table 5 Effect of coagulation time on OD value

凝固时间/ min	断裂强 力/cN	断裂强度/ (cN·Tex ⁻¹)	断裂伸 长率/%	OD 值
1	58.86	1.049	53.75	0.00
2	62.44	1.082	56.24	0.39
3	66.52	1.107	60.59	0.85
4	70.58	1.066	53.56	0.07
5	71.55	1.059	53.55	0.00

表 6 Box-Behnken 响应面法试验设计及结果

Table 6 Design and results of Box-Behnken response surface method

实验号	A/%	B	C/min	Y ₁ /cN	Y ₂ /(cN·Tex ⁻¹)	Y ₃ /%	OD 值
1	7.5 (0)	1 : 1 (0)	3 (0)	78.49	1.273	77.93	0.90
2	7.5 (0)	3 : 4 (1)	4 (1)	60.28	1.064	55.84	0.20
3	7.5 (0)	3 : 2 (-1)	4 (1)	54.79	1.049	50.56	0.07
4	6.0 (-1)	3 : 4 (1)	3 (0)	66.83	1.097	58.92	0.34
5	9.0 (1)	1 : 1 (0)	2 (-1)	55.62	1.137	52.92	0.20
6	7.5 (0)	1 : 1 (0)	3 (0)	78.52	1.271	88.85	1.00
7	7.5 (0)	3 : 4 (1)	2 (-1)	52.28	1.044	49.59	0.00
8	6.0 (-1)	1 : 1 (0)	2 (-1)	67.55	1.124	69.54	0.50
9	7.5 (0)	1 : 1 (0)	3 (0)	78.47	1.271	85.39	0.97
10	9.0 (1)	3 : 4 (1)	3 (0)	58.11	1.042	72.63	0.20
11	7.5 (0)	3 : 2 (-1)	2 (-1)	50.89	1.032	50.23	0.00
12	7.5 (0)	1 : 1 (0)	3 (0)	78.49	1.272	80.34	0.92
13	7.5 (0)	1 : 1 (0)	3 (0)	78.53	1.274	88.29	1.00
14	6.0 (-1)	3 : 2 (-1)	3 (0)	48.89	1.039	50.09	0.00
15	6.0 (-1)	1 : 1 (0)	4 (1)	68.76	1.118	69.63	0.50
16	9.0 (1)	3 : 2 (-1)	3 (0)	67.56	1.104	59.23	0.36
17	9.0 (1)	1 : 1 (0)	4 (1)	70.16	1.122	67.59	0.50

2.3.2 模型拟合及显著性分析 使用 Design Expert 10.0 软件, 将表 6 中各组指标成分的 OD 值数据进行多元回归拟合和 2 项式分析, 建立复合纤维制备工艺 OD 值对 BSP 质量分数 (A)、BSP/PVA 体积混合比 (B)、凝固时间 (C) 的 2 次回归模型方程: $OD = 0.958\ 0 - 0.01\ A + 0.038\ 8\ B + 0.071\ 3\ C - 0.125\ AB + 0.075\ AC + 0.032\ 5\ BC - 0.187\ 8\ A^2 - 0.545\ 3\ B^2 - 0.345\ 3\ C^2$ 。

回归模型的方差分析结果见表 7。由表 7 可知, 拟合模型的 P 值小于 0.01, 说明该模型极显著。失拟项的 P 值为大于 0.05, 表明该模型拟合良好, 模型的残差可能是随机误差产生的。调整决定系数 $r^2_{adj} = 0.956\ 9$, 表明复合纤维力学性能 OD 值 95.69%

化设计中, 凝固时间的水平选取为 2、3、4 min。

2.3 Box-Behnken 响应面法优化试验设计

2.3.1 试验设计与结果 在单因素实验的基础上选取 BSP 质量分数 (A)、BSP/PVA 体积混合比 (B)、凝固时间 (C) 为考察因素, 以纤维的断裂强力 (Y_1)、断裂强度 (Y_2)、断裂伸长率 (Y_3) 的 OD 值为评价指标进行 Box-Behnken 试验设计^[15]。各因素水平见表 6。Box-Behnken 试验设计方案和 OD 值数据见表 6。

的变化来源于 BSP 质量分数 (A)、BSP/PVA 体积混合比 (B) 和凝固时间 (C) 之间的变化关系, 可以通过此模型对复合纤维湿纺工艺进行分析和预测。经方差分析, 在 1 次项中, 3 个因素对复合纤维力学性能 OD 值影响的主次顺序为 $C > B > A$, 即凝固时间 $>$ BSP/PVA 体积混合比 $>$ BSP 质量分数; 2 次项中, A^2 、 B^2 和 C^2 为显著项, 说明 BSP 质量分数、BSP/PVA 体积混合比、凝固时间对响应值的影响是非线性的; 交互项中 AB 为显著项, AC、BC 均为不显著项, 表明 BSP 质量分数和 BSP/PVA 体积混合比之间交互影响非常明显。

2.3.3 最优纺丝工艺预测及试验验证比较 利用 Design Expert 10.0 软件拟合的 BSP 质量分数 (A)、

表 7 回归模型方差分析

Table 7 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	2.220 0	9	0.247 0	40.490 0	<0.000 1	B ²	1.250 0	1	1.250 0	205.19	<0.000 1
A	0.000 8	1	0.000 8	0.131 1	0.727 9	C ²	0.501 9	1	0.501 9	82.27	<0.000 1
B	0.012 0	1	0.012 0	1.970 0	0.203 3	残差	0.042 7	7	0.006 1		
C	0.040 6	1	0.040 6	6.660 0	0.036 5	失拟项	0.034 2	3	0.011 4	5.38	0.068 8
AB	0.062 5	1	0.062 5	10.240 0	0.015 1	纯误差	0.008 5	4	0.002 1		
AC	0.022 5	1	0.022 5	3.690 0	0.096 3	总变异	2.270 0	16			
BC	0.004 2	1	0.004 2	0.692 5	0.432 8	$r^2=0.981\ 2$					
A ²	0.148 4	1	0.148 4	24.330 0	0.001 7	$r^2_{\text{adj}}=0.956\ 9$					

$P<0.05$, 表示差异显著; $P<0.01$, 表示差异极显著

$P<0.05$, significant difference; $P<0.01$, more significant difference

BSP/PVA 体积混合比 (B)、凝固时间 (C) 3 个因素的交互作用对 OD 值的影响见图 1。

根据软件分析结果, 计算及预测 2 次回归方程, 得到复合纤维的最佳制备工艺为 BSP 质量分数为 7.47%, BSP/PVA 体积混合比为 1:1.04, 凝固时间为 3.10 min。此时复合纤维预测断裂强力 78.82 cN, 断裂强度 1.271 cN/Tex, 断裂伸长率 84.38%。

为了方便实际操作, 将最佳工艺参数修订为

BSP 质量分数为 7.5%, BSP/PVA 体积混合比为 1:1, 凝固时间为 3 min。在此最优条件下平行 3 次制备复合纤维, 进行工艺验证。结果见表 8。

结果显示, 在优化后的工艺条件下, 复合纤维的 Y_1 平均值为 78.67 cN, Y_2 平均值为 1.272 cN/Tex, Y_3 平均值为 86.64%, 与预测值的偏差率分别为 0.19%、0.08%、2.70%。实测值数据与预测值基本一致, 说明该实验拟合的数学回归模型是可靠的。

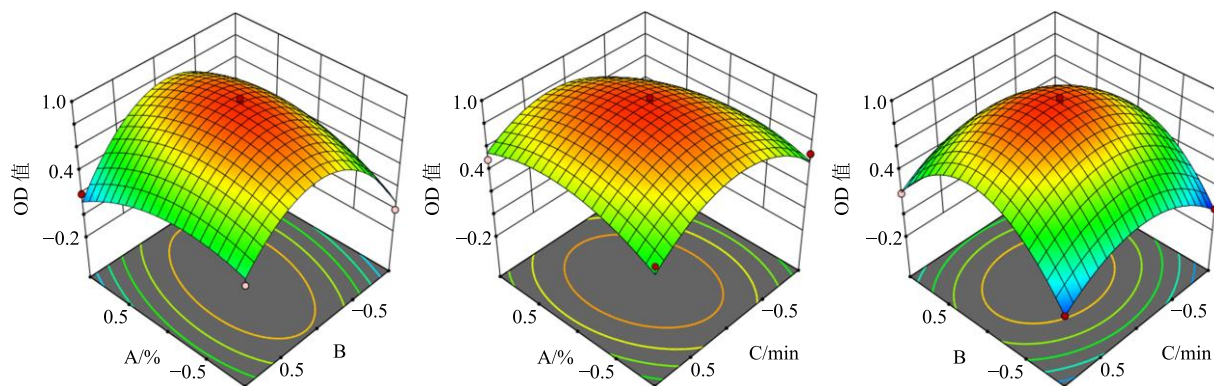


图 1 BSP 质量分数 (A)、BSP/PVA 体积混合比 (B) 和凝固时间 (C) 的交互作用响应面图

Fig. 1 Response surface diagram of BSP mass fraction (A), volumetric mixture ratio of BSP/PVA (B), and coagulation time (C) for their mutual interaction

表 8 验证试验结果 ($n=3$)

Table 8 Results of verification experiments ($n=3$)

试验号	Y_1/cN	$Y_2/(\text{cN}\cdot\text{Tex}^{-1})$	$Y_3/\%$
1	78.47	1.275	84.89
2	78.49	1.267	86.67
3	79.04	1.274	88.34
实测平均值	78.67	1.272	86.64
预测值	78.82	1.271	84.38

2.4 纤维性能表征与分析

2.4.1 纤维形貌结构分析 采用 SEM 观察 BF、BP 纤维的表面与截面微观形态。样品先进行液氮脆断及喷金处理 30 s, 结果如图 2 显示。在 SEM 下观察到 BF 纤维表面有多处沟槽^[12]。沟槽是由于溶剂水与非溶剂乙醇“双扩散”运动时, 立即发生随机的、不均匀的相转化造成的。随着 PVA 的加入, BP 纤维表面相比于 BF 纤维趋向致密化, 纤维横截面显

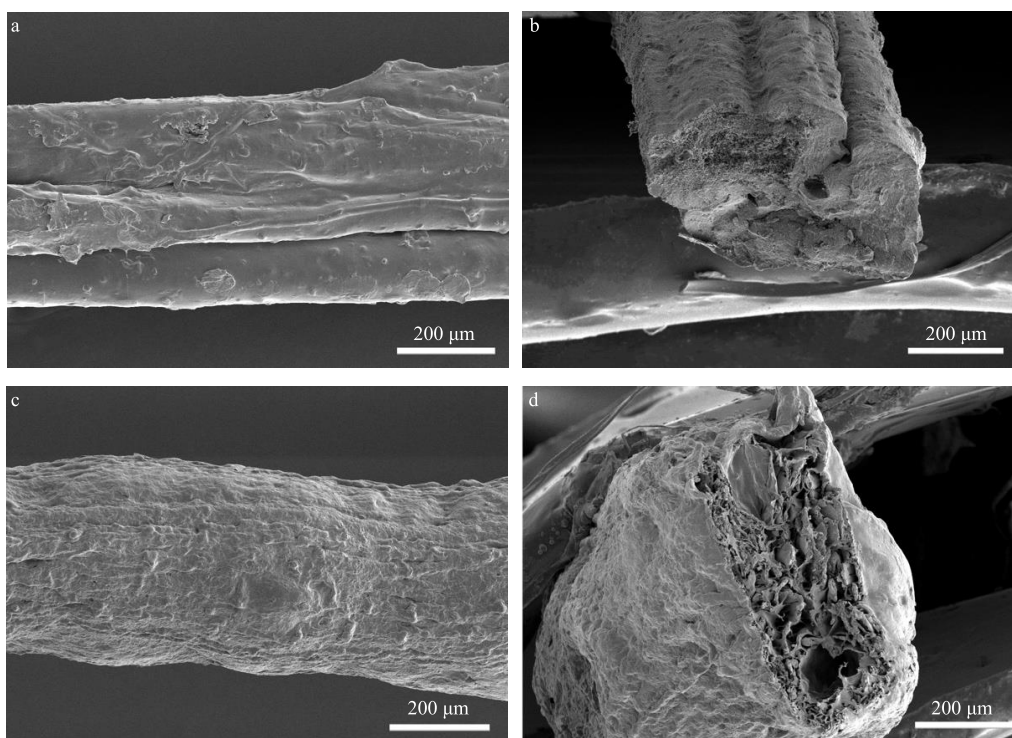


图 2 BF 纤维的表面及纵截面 (a, b) 和 BP 纤维的表面及纵截面 (c, d)

Fig. 2 Surface and cross section of BF fiber (a, b) and surface and cross section of BP fiber (c, d)

示内部形成了三维网状孔隙结构。

2.4.2 纤维红外光谱 (FTIR) 分析 用 FTIR 光谱仪进行纤维的红外表征。测试条件: 干燥的样品 2 mg, KBr 压片, 在 $500 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 进行 FTIR 光谱扫描, 记录红外图谱, 见图 3。在 BSP 与 BF 纤维样品的红外光谱图, 发现在 $3\,430.74\text{ cm}^{-1}$ 处的强宽峰对应于 -OH 的伸缩振动, 此处为多糖最明显的羟基吸收峰; 在 $2\,937.93\text{ cm}^{-1}$ 与 $1\,743.47\text{ cm}^{-1}$ 处分别观察到 C-H 的拉伸振动和糖醛酸的弱吸收峰; 而在 $1\,648.84\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰证明存在 C=O 的不对称伸缩振动; 在 $1\,078.86\text{ cm}^{-1}$ 处的峰表明呋喃糖苷的存在; 同时, 在 883.77 cm^{-1} 和 811.06 cm^{-1} 的信号代表甘露糖残基^[11]。在 BF 纤维样品中没有观察到新的吸收峰, 表明在纺丝过程中 BSP 和 BF 纤维的化学结构没有变化。在 BP 纤维的红外光谱图中, 在 883.77 cm^{-1} 处观察到 BSP 中 β -1,4 糖苷键的特征吸收峰^[1], 证明了复合纤维中 BSP 的存在, 且 -OH 伸缩振动峰变宽, 峰位向高波数移动, 发生蓝移。说明 BSP 与 PVA 的共混可能产生了分子间氢键, 这使纤维的结构变得更加稳定。

2.4.3 力学性能测试 采用电子天平精确称量 100 cm 长的纤维, 计算出纤维的线密度。然后, 采用电子单纱强力仪测定纤维的力学性能, 拉伸速度为

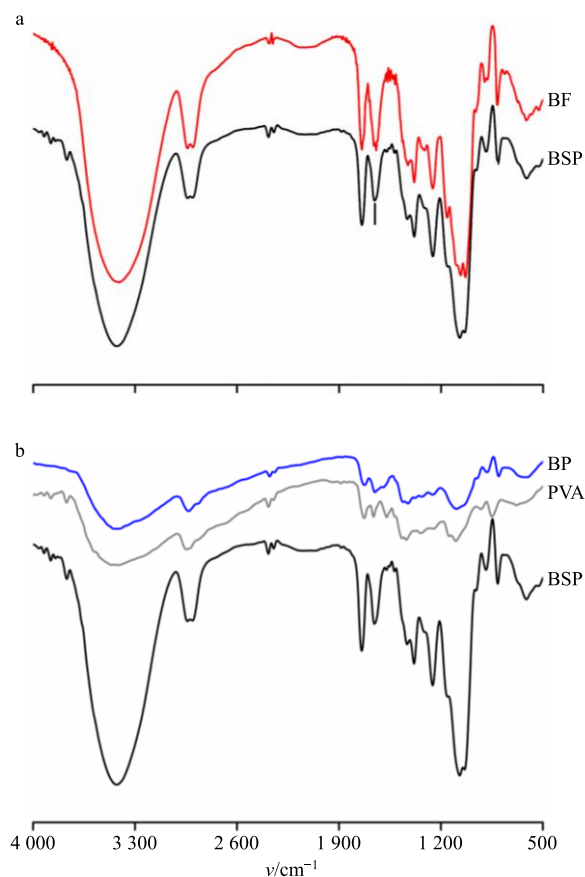


图 3 BF 纤维 (a) 和 BP 纤维 (b) 的红外图谱

Fig. 3 IR images of BF fiber (a) and BP fiber (b)

20 mm/min, 夹距为 5 cm, 记录断裂强力、断裂强度和断裂伸长率的数值, 每种样品测试 10 组, 取平均值。BF、BP 与 B-BP 纤维的断裂强力、断裂强度和断裂伸长率的测试结果见表 9。结果显示, 纤维的拉伸性能因 PVA 的加入而增强, 力学性能得到明显的改善。由于 BH 在纤维中处于分散状态, 会影响纤维大分子链之间的结合力作用, 因此 B-BP 纤维相比于 BP 纤维的力学性能稍有降低。

表 9 纤维力学性能结果 ($n = 10$)

Table 9 Results of mechanical tests of fibers ($n = 10$)

样品	断裂强力/cN	断裂强度/(cN·Tex ⁻¹)	断裂伸长率/%
BF	19.69	0.320	20.48
BP	78.57**	1.270**	87.83**
B-BP	77.62**	1.253**	85.35**

与 BF 比较: ** $P < 0.01$, 下表同

** $P < 0.01$ vs BF, same as Table below

2.4.4 差示扫描量热测试 设定 N_2 的流量为 50 mL/min。设定的温控程序为温度范围 25~350 °C, 升温速率为 20 °C/min。BF、PVA、BP 和 B-BP 纤维的 DSC 测试图谱如图 4 所示。结果显示, 在升温过程中, BSP 在 330 °C 左右出现 1 个吸热弥散峰; BP 纤维只有 1 个玻璃化转变温度 (T_g), 说明 BSP 与 PVA 共混产生分子间作用, 相容性好^[16]。B-BP 纤维的结晶温度上升, 因为 BH 小分子本身具有较强的结晶性, 在纤维中均匀分散, 充当了“成核剂”角色, 加快结晶速率, 增加结晶密度, 基于成核效应促进纤维分子链的有序排列与堆积, 有助于结晶, 从而体现出熔融温度 (T_m) 升高^[17-18], 提高纤维的热性能。

2.4.5 吸湿性测试 取定长纤维称其质量, 记为

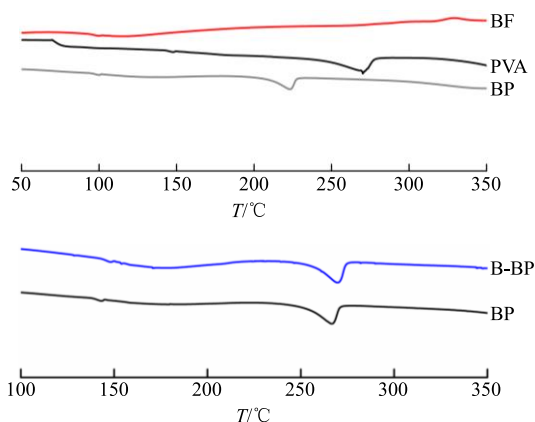


图 4 BF、PVA、BP 和 B-BP 纤维的 DSC 图谱

Fig. 4 DSC images of BF, PVA, BP, and B-BP fibers

m_1 ; 将纤维置于去离子水中一定时间后, 取出纤维, 用滤纸吸除其表面水分后称其质量, 记为 m_2 ; 纤维吸水率 = $(m_2 - m_1)/m_1$ 。

采用湿法纺丝工艺制备的纤维上分布有较多的微孔, 同时纤维中存在许多亲水性基团, 如羟基 (-OH) 能与水分子形成氢键, 保存在纤维内部。这些特点对水分子的扩散和吸收十分有利, 纤维中游离的亲水性基团越多, 纤维的吸湿能力就越强^[19]。如表 10 所示, BF 纤维吸水率达到 500% 以上, 具有很好的溶胀能力。BSP 与 PVA 的共混, 形成了分子间作用, 游离的亲水性基团减少, 使 BP 纤维吸湿能力低于 BF 纤维, 但仍保持较高的吸湿性能。理想的伤口敷料附着于伤口表面能够快速吸收伤口的分泌液体, 并维持湿润的伤口愈合环境, 因此较高的吸湿及保湿性能有助于促进伤口的愈合。

表 10 纤维的吸湿性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 10 Water absorption of fibers ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	吸湿性/%
BF	517.67 ± 16.13
BP	328.44 ± 14.34**

2.5 药物纤维的载药性能分析

2.5.1 缓冲溶液的配制和标准曲线的绘制 首先将一定量的 NaCl、KCl、 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 、 KH_2PO_4 加入纯水中, 然后用稀磷酸和稀氢氧化钠溶液调节 pH 值, 制得 pH 7.4 的 PBS 缓冲液。其次再将一定量的 BH 溶于 PBS 溶液, 配成系列浓度 BH 溶液, 在 BH 最大吸收波长处采用可见分光光度计测定其可见光吸光度 (A) 值, 并绘制标准曲线。

2.5.2 药物纤维的体外释放及载药包封率的测定 取 B-BP 纤维 3 组平行样, 分别加入等量 PBS 缓冲液, 并置于 37 °C 的恒温摇床中, 分别于 0.5、1、2、4 h, 取 2 mL 缓冲液, 再向样品瓶内加入等量的 PBS 缓冲液继续进行药物释放, 并测定所取缓冲液的 A 值。根据药物标准曲线方程计算药物浓度及释药量, 绘制出药物累积释放率曲线, 并计算出 B-BP 纤维的包封率。

$$\text{包封率} = w_{IBH}/w_{BH}$$

w_{BH} 、 w_{IBH} 分别表示 B-BP 纤维中加入的 BH 的含量和实际 BH 的质量

B-BP 纤维的释药曲线如图 5 所示, 在释药前期, 附着在纤维表面的药物先释放出来, 释药速率很快, 随着纤维逐渐吸湿, 水分子进入纤维内部,

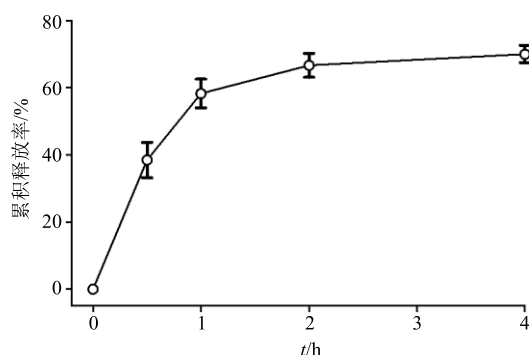


图 5 B-BP 纤维中 BH 的释放行为 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 BH release behavior of B-BP fiber ($\bar{x} \pm s, n=3$)

分布在纤维内部的药物逐渐开始释放,充分溶胀后,释药速率趋于平缓,直至药物完全释放。在前者的研究中发现 BH 的释放具有 pH 值相关性^[17]。在弱碱性条件下, BH 的释放相比弱酸性与中性环境下均释放快。因此,选取 pH 7.4 的 PBS 缓冲液作为释药介质,其回归方程为 $A=0.819\ 3\ C+1.679\ 3$, $r^2=0.999\ 5$ 。根据回归方程算出药物释放量,经计算得出纤维的包封率约为 70.2%。

在湿法纺丝制备载药纤维的各个工序中,如进入凝固浴、拉伸介质的过程中,药物都有可能从纺丝原液或纤维中析出,导致药物部分损失,使得载药纤维中药物含量少于纺丝原液中药物含量。基于温和的湿纺条件,在纺丝过程中不会对药物造成破坏,综合纤维的结构与性能,湿纺纤维作为载药系统具有非常好的应用前景^[20]。

2.6 载药纤维体外抗菌活性分析

2.6.1 固体培养基的制备 称取一定量的牛肉膏、蛋白胨、氯化钠、琼脂,加入纯水煮沸后,调 pH 值至 7.2~7.4,经高压蒸汽灭菌锅灭菌后待用。

2.6.2 培养基铺板 取灭菌后的培养基加入到培养皿中,待其凝固后使用。

2.6.3 定性测试(抑菌圈法) 在培养皿中分别加入 100 μL 1×10^8 cfu/mL 的大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*,用涂布器涂布均匀,取 10 mg B-BP 纤维样品,剪裁为 1 cm $\times$ 1 cm,经紫外照射 30 min 后放在在培养基上,然后将培养皿放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h 后观察抑菌圈大小(外径减去内径)。

2.6.4 定量测试(抑菌率法) 取 EP 管将菌液逐级稀释,以菌落数低于 200 的稀释浓度作为实验的菌液浓度。取 10 mg B-BP 纤维与菌液放在孔板里孵育 4 h 后,取 100 μL 在培养皿中涂布均匀,然后

将培养皿放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养。24 h 后观察并记录活菌数量 n_2 ,以不放纤维样品的实验组的细菌数量 n_1 作为对照,计算抑菌率。

$$\text{抑菌率}=(n_1-n_2)/n_1$$

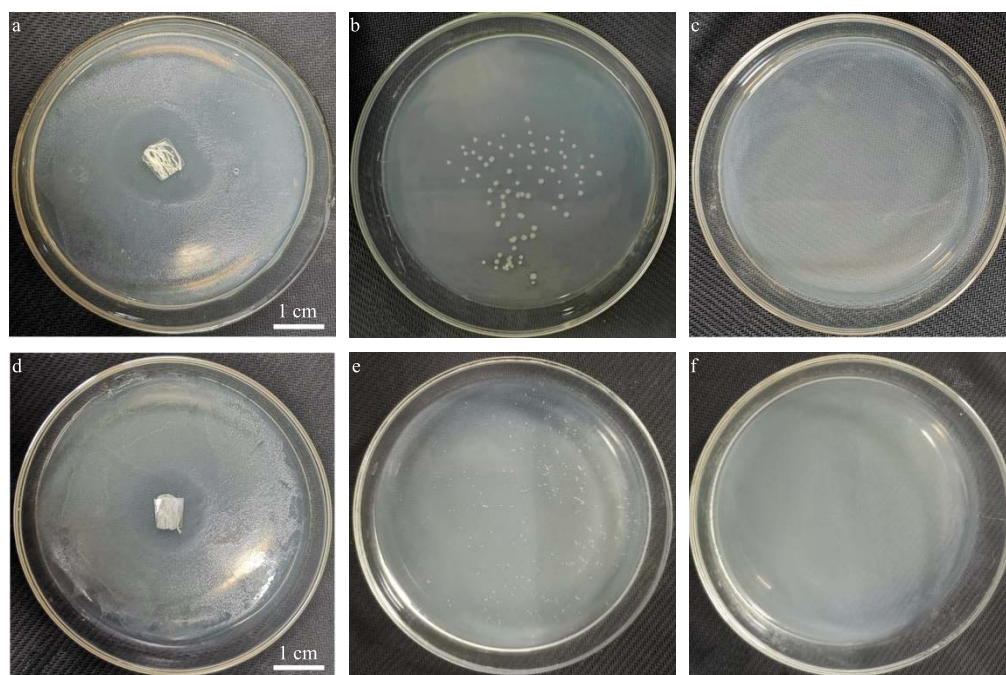
实验结果如图 6 显示,已知样品直径为 1 cm,通过抑菌圈可直观地观察到 B-BP 纤维的抑菌效果,对大肠杆菌的抑菌圈直径达 20 mm,金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径达 14 mm;与对照组相比,定量测试对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌率均达 100%,表现出较强的抑菌能力。金黄色葡萄球菌是一种革兰阳性细菌,其细胞壁较厚,生存力强,载药纤维对其抑菌效果略低于大肠杆菌^[21]。

抗菌材料通过有效的抑制细菌,防止伤口进一步感染和恶化,在伤口愈合的过程中起着至关重要的作用。在细菌耐药性的背景下,选择天然的抗菌剂 BH 包封于复合纤维中,实验结果表明这种药物纤维的抗菌性能较好。同时基于前者的研究, BSP 作为止血材料,含有丰富的甘露糖结构,可与巨噬细胞膜上的甘露糖受体(CD206)结合并活化巨噬细胞;诱导内皮细胞(EGF)增殖和血管内皮生长因子(VEGF)的表达;促进成纤维细胞增殖和胶原沉积,在伤口愈合的炎症、增殖和重塑阶段发挥作用,可促进伤口的愈合速度^[10]。上述表明该纤维载 BH 后具有医用抗菌敷料应用潜力。

3 讨论

BSP,又名白及胶,在前期的研究中^[22-23],基于“药辅合一”的中药药剂设计理论,其持水增稠、悬浮、胶凝、成膜等功能特性,具有快速起漂、长时间漂浮和缓释的性能,是一种优良的胃滞留漂浮型缓控释制剂辅料,从制剂学角度体现“药之为辅”;BSP 中多个 β -1,4-甘露糖残基形成螺旋结构,利于包封药物,可形成包合内容物结构,改善客体分子理化性质,从治疗学角度体现“辅之为药”。BSP/PVA 复合体系基于 BSP 的生理活性及吸水溶胀、包封药物的功能特性,可制备为多功能的湿纺纤维。

同时, BSP/PVA 复合纤维的制备受到多种因素的影响。在单因素的基础上,通过响应面法考察影响因素之间的交互作用,建立预测模型,并对模型的显著项和失拟项进行检验,诊断模型的可靠性,最终得出最佳工艺条件^[24-25]。采用湿法纺丝这种环境友好且低成本的方法,以 BSP/PVA 作为纺丝原液,乙醇作为凝固浴,成功制备了 BP 纤维。优化的纺丝工艺可行、成本低廉, BP 纤维因 PVA 的加



大肠杆菌的抑菌圈 (a) 和金黄色葡萄球菌的抑菌圈 (d); 大肠杆菌的对照组 (b) 和样品组 (c); 金黄色葡萄球菌的对照组 (e) 和样品组 (f)
inhibition zone of *E. coli* (a) and *S. aureus* (d); control (b) and sample (c) group of *E. coli*; control (e) and sample (f) group of *S. aureus*

图 6 B-BP 纤维的抗菌活性

Fig. 6 Antimicrobial activity of B-BP fiber

入相比 BSP 纤维具有更好的拉伸性能, 且保持较高的吸湿能力。包载 BH 后的 B-BP 纤维表现出较好的抑菌能力, 表明 BP 纤维具有一定载药能力, 后续将针对 BP 纤维释药性能做进一步研究。

参考文献

- [1] Qu Y, Li C, Zhang C, *et al.* Optimization of infrared-assisted extraction of *Bletilla striata* polysaccharides based on response surface methodology and their antioxidant activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 148: 345-353.
- [2] He X, Fang J, Wang X, *et al.* *Bletilla striata*: Medicinal uses, phytochemistry and pharmacological activities [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 195: 20-38.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 刘珈羽, 冯靖雯, 方皓, 等. 白及粉末入药历史沿革概述 [J]. *中成药*, 2018, 40(1): 176-180.
- [5] 党婷婷, 王济, 唐鹏, 等. 活性氧响应的白及多糖载药胶束制备及其表征 [J]. *中草药*, 2018, 49(23): 5548-5553.
- [6] 吴雨佳, 王令充, 张雯, 等. 生物黏附性三七总皂苷-白及多糖-海藻酸钠复合微球的制备及表征 [J]. *中草药*, 2019, 50(20): 4896-4903.
- [7] 王斯韬, 朱峻霄, 崔秀明, 等. 白及多糖外用水凝胶的制备与评价 [J]. *中草药*, 2017, 48(5): 888-893.
- [8] 王玉蓉, 冯斌, 巨佳, 等. 羧甲基化白及多糖-壳聚糖载姜黄素聚电解质复合膜的制备及其表征 [J]. *中草药*, 2020, 51(4): 978-985.
- [9] 程玉钊, 郝旭亮, 付丽娜, 等. 基于白及多糖的黄藤素纳米柔性脂质体膜剂的制备研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(11): 2551-2556.
- [10] Chen Z, Cheng L, He Y, *et al.* Extraction, characterization, utilization as wound dressing and drug delivery of *Bletilla striata* polysaccharide: A review [J]. *Inter J Biol Macromol*, 2018, 120: 2076-2085.
- [11] Chen J, Lv L, Li Y, *et al.* Preparation and evaluation of *Bletilla striata* polysaccharide/graphene oxide composite hemostatic sponge [J]. *Inter J Biol Macromol*, 2019, 130: 827-835.
- [12] Zhuang Y, Wang L, Liu C, *et al.* A novel fiber from *Bletilla striata* tuber: Physical properties and application [J]. *Cellulose*, 2019, 26(9): 5201-5210.
- [13] 张定堃, 傅超美, 林俊芝, 等. 中药制剂的“药辅合一”及其应用价值 [J]. *中草药*, 2017, 48(10): 1921-1929.
- [14] 王玥, 吕露阳, 李莹, 等. Box-Behnken 响应面法优化彝药蜜酒同制大黄工艺 [J]. *中草药*, 2019, 50(4): 844-851.
- [15] Tan L, Gan L, Hu J, *et al.* Functional shape memory composite nanofibers with graphene oxide filler [J]. *Compos Part A-Appl S*, 2015, 76: 115-123.

- [16] Kanniyappan H, Thangavel P, Chakraborty S, *et al.* Design and evaluation of Konjac glucomannan-based bioactive interpenetrating network (IPN) scaffolds for engineering vascularized bone tissues [J]. *Inter J Biol Macromol*, 2020, 143: 30-40.
- [17] 唐佳敏, 郑威, 赵瑞方, 等. 盐酸小檗碱在皮芯氨纶纤维中的负载与释放 [J]. 高分子材料科学与工程, 2018, 34(11): 49-55.
- [18] 董强, 凌天清, 熊出华. 聚乙烯醇分子结构对聚乙烯醇/氧化石墨烯复合材料吸水保水性能的影响 [J]. 高分子材料科学与工程, 2019, 35(5): 38-43.
- [19] 黄亚飞. 多糖复合纤维的制备及性能研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2017.
- [20] 吴焕岭, 申夏夏, 朱利民. 湿法纺丝技术在新型载药系统中的研究进展与前景分析 [J]. 材料导报, 2015, 29(13): 112-117.
- [21] 安健. 天然抗菌成分盐酸小檗碱微胶囊的制备及抗菌性研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2008.
- [22] 李春雪, 曾锐, 钱妍, 等. 多孔性白及胶的制备及辅料特性初步研究 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4245-4252.
- [23] 陈正坤, 王嘉兴, 林平, 等. 白及多糖在药剂领域的应用 [J]. 中南药学, 2019, 17(1): 74-77.
- [24] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用 [J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41-45.
- [25] 张艳, 李永哲. 响应面法及其在药学领域中的应用 [J]. 吉林化工学院学报, 2012, 29(7): 20-26.