

丝素蛋白/姜黄素药膜的体外降解性能研究

何一鸣^{1a,2}, 赵泽宇^{1a,b}, 贺超恒^{1a,b}, 谢旭升^{1a,b}, 樊珊佩^{1a}, 陈国强^{1a,b}, 李翼³, 李刚^{1a,b}

(1. 苏州大学 a. 纺织与服装工程学院; b. 现代丝绸国家工程实验室, 江苏 苏州 215123; 2. 南京大学 化学化工学院, 南京 210093; 3. 曼切斯特大学 材料学院, 曼切斯特 M13 9PL 英国)

摘要: 为了有效缓解结直肠癌引起的梗阻, 文章在前期研制的覆膜生物可降解支架的基础上, 对支架外层药膜的降解性能进行了研究。通过对三种不同药物浓度的药膜体外降解后的质量损失、降解液 pH 值变化、力学性能、二级结构、表面形貌, 以及药膜的缓释性能进行分析, 研究其降解情况和影响因素。结果表明, 三组药膜的降解速度相近, 均在 15 d 降解完成, 药膜变成碎片状, 质量损失达 60%, 药膜的 silk I 构型受到破坏。药膜中的药物释放率高, 可达 $(83.29 \pm 2.45)\%$ 。因此, 该载药支架药膜在置入人体后可能在规定时间内完成降解并进行药物释放。

关键词: 肠道支架; 丝素蛋白; 姜黄素; 药膜; 体外降解

中图分类号: TS102.54; R318.08 文献标志码: A 文章编号: 1001-7003(2018)11-0011-07 引用页码: 111103

In vitro degradation of silk fibroin/curcumin drug-loaded membranes

HE Yiming^{1a,2}, ZHAO Zeyu^{1a,b}, HE Chaoheng^{1a,b}, XIE Xusheng^{1a,b}, FAN Shanpei^{1a},
CHEN Guoqiang^{1a,b}, LI Yi³, LI Gang^{1a,b}

(1a. College of Textile and Clothing Engineering; 1b. National Engineering Laboratory for Modern Silk, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 3. School of Materials, The University of Manchester, Manchester M13 9PL, UK)

Abstract: To effectively relieve obstruction caused by colorectal cancer, the biodegradation property of drug membrane at the outer layer of the stent was studied based on biodegradable stent developed. The degradation and influencing factors were investigated through analyzing mass loss of drug membrane with three different concentrations after in vitro degradation, pH changes of degradation solution, mechanical properties, secondary structure, morphology, and drug sustained release property of drug membrane. The results showed that the three groups of drug membranes had the similar degradation performance generally. Degradation behaviors were observed within 15 days, and drug membrane became shredded membrane. The mass loss reached 60%, and silk I configuration was damaged. The membranes had high drug release rate, as high as $(83.29 \pm 2.45)\%$. Therefore, such drug membrane can complete degradation and release the drug within the specified time after implantation in the human body.

Key words: intestinal tract stent; silk fibroin; curcumin; drug membrane; in vitro degradation

近年来, 随着环境恶化和饮食结构的改变, 结直

肠癌(colon and rectal cancers, CRC) 呈现高发态势, 成为世界第三大高发病率和死亡率的癌症, 已经引起了世界范围内的广泛关注。肠梗阻是该类疾病的常见临床症状, 通常直接采用外科手术来恢复畅通, 但是由于急诊手术风险大、创伤大和死亡率高。临床中, 常采用支架置入等方法作为过渡手术以缓解症状, 配合放化疗进行进一步治疗。该手段创伤小、风险低, 可快速缓解肠道梗阻, 但存在支架材料选用

收稿日期: 2018-04-09; 修回日期: 2018-09-28

基金项目: 大学生创新创业训练计划项目(201610285027Z); 国家自然科学基金项目(51603140); 江苏省自然科学基金项目(BK20150372); 中国博士后科学基金项目(2017M620223); 苏州市科技计划重点产业技术创新项目(SYG201638)

作者简介: 何一鸣(1997—), 男, 2014 级纺织工程专业本科生。通信作者: 李刚, 副教授, jcligang@suda.edu.cn。

方面和生物力学问题,容易引起肠道穿孔和出血等并发症;同时,化疗药物经人体新陈代谢和层层分离后,实际到达肿瘤部位的有效药物浓度极低,治疗效率低下^[1-3]。为了解决上述问题,采用生物材料结合药物缓释技术是一种有效的治疗思路。生物可降解材料来源广泛,可人工合成,也可从天然动植物提成,同时具有良好的生物相容性和生物可降解性能,与人体亲和度高,是良好的体内植入材料^[4]。本课题前期研究过程中,研制了一种丝素蛋白载姜黄素药膜的聚二氧六环酮(polydioxanone, PDO)生物可降解支架。该支架可以在有效缓解梗阻的同时对肿瘤部位产生针对性的治疗效果,副作用小。本文采用PDO作为原材料制作支架,该材料无毒性,是一种理想的生物可降解合成材料^[5]。实验采用丝素蛋白成膜技术,进行药物搭载。该材料有着良好的成膜性,同时具有较高的机械强度,良好的生物相容性、降解可控性^[6-9]。通过控制丝素蛋白的二级结构,增加Silk II构型含量,以及控制分子间相互结合方式,即可实现有效控制其降解^[10-14]。

本文实验中所用药物为姜黄素,其是从姜黄科植物提取出的一种天然抗肿瘤药物,为多酚类化合物^[15]。其具有良好的抗癌效果,毒副作用小,被广泛采用为抗癌药物。姜黄素中含有的二酚基使姜黄素具有抗氧化和抗肿瘤作用^[16]。采用姜黄素溶于聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)后再与丝素蛋白水溶液混合的方法具有可行性,可以用于肿瘤治疗,抑制肿瘤生长,减少瘤体数目,减轻癌细胞的危害。

为了研究丝素蛋白药膜在人体内的降解情况,确定不同姜黄素含量的药膜的降解方式和规律,本文设计了三组具有不同姜黄素浓度的丝素蛋白药膜,将其浸没在用磷酸二氢钾和胰蛋白酶配置成的人工肠液中,对降解液的pH值变化进行监测,并表征其降解后的外观形貌、拉伸性能、二级结构及微观形貌,探讨药膜的降解情况,为将来进行体内降解实验研究打下前期基础。

1 实验

1.1 材料及仪器

桑蚕丝(嵊州市协和丝绸有限公司),胰蛋白酶(猪胰脏)(苏州氩氩氩贸易有限公司),聚乙二醇(相对分子质量400,优级纯)(国药集团化学试剂有限公司),姜黄素(Sigma)(美国西格玛奥德里奇公

司),其他所用试剂均为分析纯。日立S4800型冷场发射扫描电子显微镜(SEM)(日本Hitachi公司),Thermo Nicolet 5700型傅里叶变换红外光谱仪(美国尼高力仪器公司),INSTRON5967万能材料试验机(美国英斯特朗公司)。

1.2 方法

1.2.1 丝素蛋白溶液制备

制备丝素蛋白水溶液的第一步是进行丝素的脱胶。首先量取12 L纯水置于脱胶锅中加热;再称取25.44 g无水碳酸钠及30 g蚕丝;在纯水沸腾之际加入无水碳酸钠,使其充分溶解,并继续加热;待水溶液沸腾后将称取好的蚕丝加入溶液中,每隔10 min搅拌一次;煮30 min后取出蚕丝,并在纯水中反复搓洗3~4次,随后置于通风橱中过夜干燥。

将脱胶完全的丝素晾干后溶于摩尔浓度为10 mol/L的溴化锂溶液中。随后称取5份均为5 g的蚕丝,分别装在50 mL烧杯中,并在每个烧杯中加入20 mL摩尔浓度为10 mol/L的溴化锂溶液。玻璃棒搅拌使蚕丝充分浸入溶液中,再用锡箔纸包裹烧杯置于60℃的恒温箱中加热4 h(每隔1 h摇晃一次),使其溶解完全。待溶解完全后装入透析袋透析36 h,去除可溶性杂质(每隔4 h换一次水)。在透析完成后取出溶液,随后置于离心机上,在转速为9 000 r/min,温度3℃,转动惯量(JA值)为25.5的条件下进行离心运动20 min,去除不容杂质。离心完成后将丝素溶液装于透析袋中置于2 L的PEG-400溶液中进行浓缩、透析36 h,随后将丝素溶液浓度配置为15%。

1.2.2 丝素蛋白/姜黄素膜制备

室温下对桑蚕丝进行溶丝、透析、离心及浓缩处理,得到质量分数为15%的丝素蛋白溶液。先将姜黄素溶解于聚乙二醇(PEG-400)中,即每毫升PEG-400加入5 mg姜黄素。再将含姜黄素的聚乙二醇溶液与丝素蛋白溶液按照质量比1:3、1:6和1:9均匀混合,混合溶液中姜黄素的质量分数分别为0.125%、0.071%和0.056%,随后在80℃的条件下烘干成膜。将制好的药膜根据力学性能检测要求制成10 mm×30 mm的矩形样,每个样品厚度均为0.1 mm。

1.2.3 丝素蛋白药膜体外降解

实验组设计如表1所示,分为加酶实验组和不加酶实验组两组。

加酶实验组:取磷酸二氢钾6.8 g,加水500 mL使其溶解,用0.1 mol/L NaOH溶液调节pH值至6.8。

表 1 实验组设计

Tab. 1 Design of experimental group

组别	降解液	降解温度/°C	降解时间/d
1	人工肠液	37 ± 2.5	15
2	磷酸二氢钾溶液	37 ± 2.5	15

取胰酶 10 g,加水适量使其溶解,将两溶液混合后加水稀释至 1 000 mL。

不加酶实验组:取磷酸二氢钾 6.8 g,加水 500 mL 使其溶解,用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8,再加水稀释至 1 000 mL。

将样品放在培养皿中进行降解,在加入降解液之前,先对样品及培养皿进行称量。再将降解液加入制好的样品中,使溶液完全浸没样品。随后放在 37 °C 恒温箱中,降解 15 d,每天更换降解液,保证酶的活性。分别在降解第 3、6、9、12、15 天取样,并将取好的样置于通风橱过夜干燥。

1.2.4 力学性能检测

将准备好的样品用人工肠液浸润,随后在温度为 25 °C、相对湿度为 65% 的条件下,调整拉伸速度为 20 mm/min,两夹头间距为 20 mm 进行拉伸实验。记录其断裂强力 F 和断裂伸长率。药膜的断裂强度用下式计算得出。

$$BS = F/A \quad (1)$$

$$A = D \times W \quad (2)$$

式中: BS 为药膜断裂强度, cN/mm^2 ; F 为药膜断裂强力, cN ; A 为药膜横截面面积, mm^2 ; D 为药膜的厚度, mm ; W 为药膜的宽度, mm 。

1.2.5 pH 值变化

在更换降解液时,1 mL 针头注射器吸走上清液,用校正过的电子 pH 检测仪检测 pH 值。首先用去离子水将检测电极冲洗干净,随后将电极放在烧杯中,使其浸没在溶液里。待检测仪屏幕显示稳定后记录数据。

1.2.6 质量损失

每个取样点处称量药膜加培养皿的质量,每种样品设置四个平行样,将样品放置在空培养皿中,进行称重记录为 W_1 。定期取样,用 1 mL 针头注射器吸走上清,以避免降解后的一些细小碎片丢失,用超纯水冲洗抗菌涂层材料,并用 1 mL 针头注射器吸走,置于 60 °C 烘箱烘干 2 h。随后将降解后的抗菌涂层材料和培养皿一起称重记为 W_2 。抗菌涂层材料的质量损失率用下式计算得出。

$$W_L/\% = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100 \quad (3)$$

式中: W_L 是药膜质量损失率; W_1 是药膜降解前质量; W_2 是药膜降解后质量。

1.2.7 膜形貌表征

随机选取外层药膜样品,并对其进行喷金处理 90 s,在冷场发射扫描电子显微镜下观察药膜表面形态。

1.2.8 二级结构表征

从每个组分随机取出一个样本,剪成粉末状;取 2 mg 样品和 20 mg 的溴化锂,在玛瑙研钵中研磨,放入模具,压成薄片;对制成的样品进行光谱测试,范围为 400 ~ 4 000 cm^{-1} 。将药膜降解前后的光谱图进行对比,分析降解中药膜二级结构变化情况。

1.2.9 药物缓释性能

缓释液的配方如表 2 所示,将药品溶于 800 mL 的去离子水中,并调节 pH 值至 7.4,随后定容至 1 L 以配置 0.1 mol/L 的 PBS 缓冲液。第二步取 92 mL PBS 缓冲液,加入 5 mL 的 10% 吐温和 3 mL 甲醇,配置成缓释液。

表 2 0.1 mol/L PBS 缓冲液配方

Tab. 2 Formula of 0.1 mol/L PBS buffer

药品	质量/g
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	36.28
KH_2PO_4	2.40
NaCl	8.00
KCl	0.20

分别称取三种质量分数不同的药膜 0.1 g,计算出其姜黄素含量。对制好的样品进行水蒸气处理 6 h,使其不溶于配置好的缓释溶液。随后将药膜置于 5 mL 离心管内,加入 2 mL 磷酸盐缓冲溶液,密封后置于恒温摇床 37 °C,100 r/min。一定时间间隔吸取 0.5 mL 待测液,测定姜黄素(波长为 425 nm)的累积释放率,同时滴加 0.5 mL 新鲜磷酸盐缓冲溶液。

2 结果及分析

2.1 拉伸性能

由于丝素蛋白的水溶性,丝素蛋白基药膜在浸泡第 3 天就出现破裂现象,已不满足拉伸性能检测的相关要求,因此,此处只对未降解的药膜进行力学性能检测。图 1 为三种不同药物质量分数的丝素蛋白药膜的力学性能。质量分数分别为 0.125%、0.071% 和 0.056% 的三组药膜的断裂强力依次为 907.26 cN/mm^2 、996.65 cN/mm^2 和 1 173.10 cN/mm^2 ,断裂伸长率依次为 16.85%、18.21% 和 19.58%。从

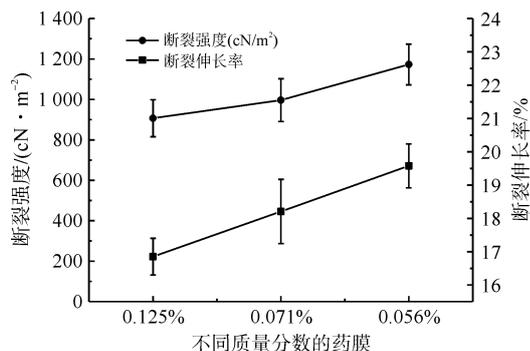


图1 丝素蛋白/姜黄素药膜断裂强度和断裂伸长率
Fig.1 Breaking strength and elongation at break of the silk fibroin/curcumin drug-loaded membranes

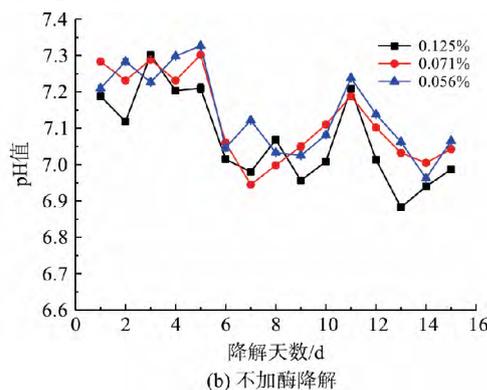
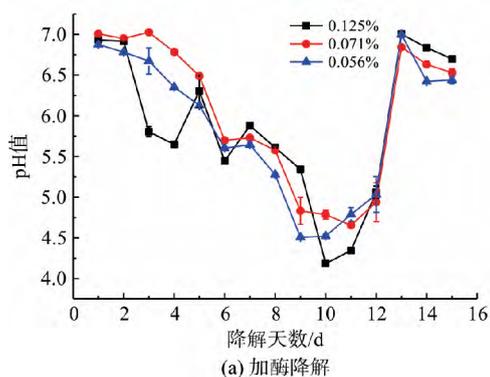


图2 降解液 pH 值变化
Fig.2 pH changes of degradation liquid

图2(a)是加酶降解组的pH值变化曲线,加入的降解液pH值为6.8。由该图可知从降解第3天开始,质量分数为0.125%药膜的降解液的pH值率先降低到5.78,其后降解液的pH值下降加快,并于降解第10天达到最低值。在此处质量分数分别为0.125%、0.071%和0.056%的三组药膜的pH值依次为4.17、4.79和4.52,随后降解液的pH值逐渐增加,在第13天达到7.0后保持稳定。说明在前三天胰蛋白酶首先在药膜的表面发挥作用,但没有破坏

丝素蛋白内部结构。而第3天以后丝素蛋白内部结构开始受到破坏,产生游离的氨基酸,同时破坏速度在逐渐加快,直到第10天达到最高。随着无定形区域完全遭到破坏,溶液pH值降低并趋于稳定。而在图2(b)中降解液的pH值一直保持稳定,在7.0上下浮动。说明没有胰蛋白酶存在的缓冲液,会减缓药膜的降解速度。

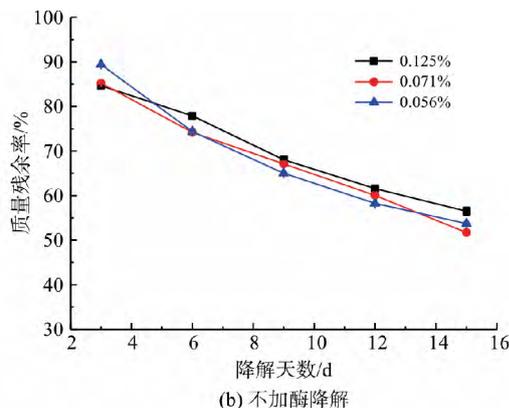
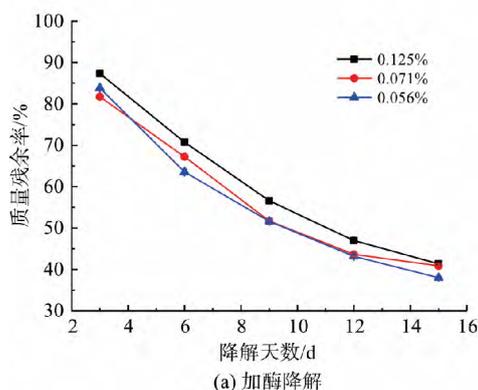


图3 不同降解时间点的降解质量损失
Fig.3 Degradation mass loss at different point of degradation time

2.3 质量损失

降解过程中的样品质量残余率如图3所示。从

图 3(a) 可以看出,在降解的第 3 天药物质量分数分别为 0.125%、0.071% 和 0.056% 的药膜的质量损失不高,剩余百分比分别为 87%、81% 和 83%。这是因为丝素蛋白膜具有一定的水溶性,有一部分丝素蛋白溶解在水中。在第 3 天之后,药膜的质量明显降低,直至第 9 天质量剩余率为 56%、51% 和 50%,随后质量降低减缓,并在 12 d 后趋于平缓。在第 15 天三组药膜的质量分别剩余 42%、41% 和 38%,此时降解完成。该结果和前文对 pH 值的分析一致,降解从第 3 天开始加速至第 10 天后减缓,最后趋于平稳。同时图 3(a) 可看出,药物的加入提高了药膜的降解程度。

从图 3(b) 可以看出,在不加酶的缓冲液中三组药膜的质量也有明显下降,质量剩余率分别为 56%、50% 和 53%,说明该药膜的水溶性较强,宜干燥保存。

2.4 扫描电镜

不同降解条件的药膜表面形貌如图 4 所示。随着姜黄素质量分数的提高,药膜的结晶度开始增加,从而使其表面更加平整。从图 4(a ~ c) 可以看出,在降解前药膜表面光滑平整,说明其结构保持稳定。在图 4(d ~ f) 中可看到,加酶降解组药膜在第 12 天其表面出现了明显的裂缝,表面结构受到破坏,变得不再均匀。而降解到第 15 天的药膜表面则有更多较为明显的裂缝,表面结构受到严重破坏。图 4(j ~ l) 的未加酶的药膜,在降解第 15 天时表面仍保持着较完整的结构,没有明显的破坏痕迹。说明药膜在加酶溶液中降解比较完全,表面结构受到了严重破坏。但是在未加酶的对照组中,虽然药膜有一定水溶性,但是其表面结构没有受到明显破坏。

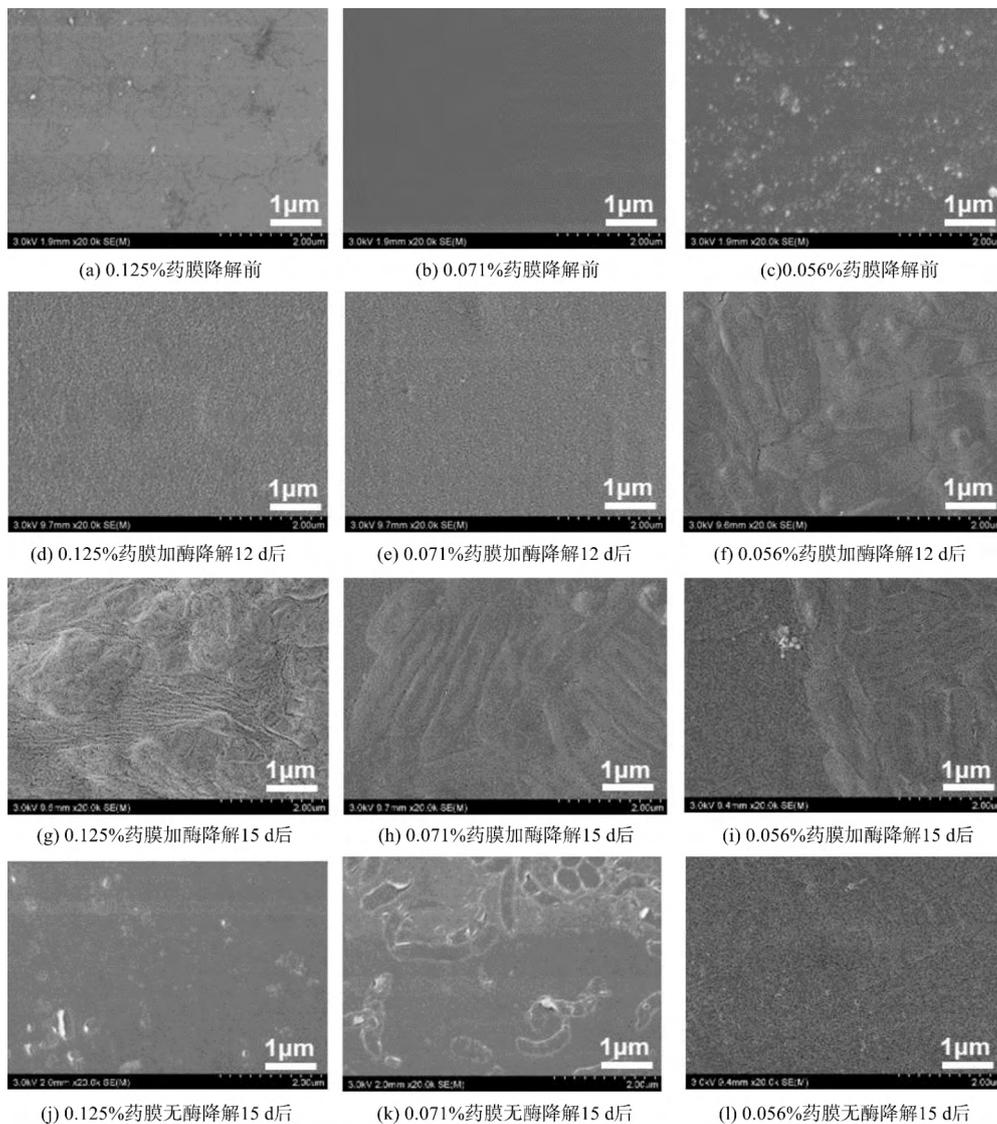
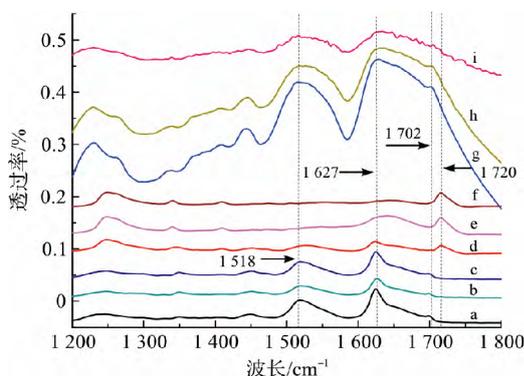


图 4 药膜在降解前后的扫描电镜(SEM)

Fig. 4 SEM micrographs of drug membranes before and after degradation

2.5 红外光谱分析

根据文献研究,酰胺 I ($1600 \sim 1700 \text{ cm}^{-1}$) 里 β 折叠的最大吸收峰位于 $1616 \sim 1637 \text{ cm}^{-1}$, 无规卷曲的最大吸收峰出现在 $1638 \sim 1655 \text{ cm}^{-1}$, α 螺旋的最大吸收峰在 $1656 \sim 1662 \text{ cm}^{-1}$, β 转角的最大吸收峰在 $1663 \sim 1696 \text{ cm}^{-1}$ [17-19]。且峰值位于 $1616 \sim 1637 \text{ cm}^{-1}$ 及 $1697 \sim 1703 \text{ cm}^{-1}$ 为 silk II 构型 [19]。纯丝素蛋白膜和不同参数药膜的傅里叶变换红外光谱如图 5 所示。由图 5 可知,在降解前丝素药膜同时包含 silk I 和 silk II 两种结构,随着降解的进行峰值发生了减弱和偏移。从降解第 9 天开始, 1518 cm^{-1} 和 1627 cm^{-1} 处的峰值出现了明显减弱,在 1702 cm^{-1} 处的峰值偏移到 1720 cm^{-1} 处。对比降解产物中, silk I 的峰值几乎消失,仅剩 silk II 峰值,说明此阶段的降解完全破坏了药膜的无定型区域,但是对具有 silk II 构型的结晶区破坏不明显。



(a~c) 姜黄素质量分数分别为 0.125%、0.071% 和 0.056% 药膜的降解前;
(d~f) 姜黄素质量分数 0.125%、0.071% 和 0.056% 的加酶降解 9 d 后;
(g~i) 姜黄素质量分数 0.125%、0.071% 和 0.056% 的加酶降解 15 d 后

图 5 不同降解程度药膜的傅里叶变换红外光谱

Fig. 5 FTIR spectra of drug membranes with different degradation degree

2.6 药物缓释性能

三组不同质量分数的姜黄素药膜释放曲线如图 6 所示。三组不同质量分数的药膜在 400 h 内持续释放药物并于 400 h 时达到最高释放率。其中,质量分数为 0.125% 的姜黄素药膜的累积释放率最高,达 $(83.29 \pm 2.45)\%$ 。从图 6 可以看出,随着姜黄素药膜质量分数的提高姜黄素的累积释放速率逐渐增大,同时累积释放率也得到了明显的提高。相较于质量分数为 0.125% 的药膜,另外两组药膜的药物累积释放率则有所降低,分别为 $(78.15 \pm 3.92)\%$ 和 $(68.20 \pm 7.26)\%$ 。说明质量分数为 0.125% 的姜黄素药膜有着最佳的药物缓释性能,能够保证药物的

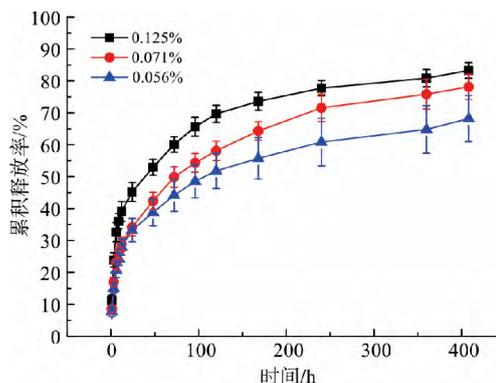


图 6 姜黄素药物累积释放率

Fig. 6 Cumulative release percentage of curcumin drug
充分利用。分析认为,该质量分数的姜黄素药物与丝素蛋白均匀混合,并随着丝素蛋白的降解而实现缓慢地释放药物。

3 结论

本文讨论了丝素蛋白搭载姜黄素药膜的体外降解性能。制备了三种不同载药含量的药膜,并对它们在降解过程中降解液的 pH 值变化、药膜质量变化、表面形貌、二级结构,以及药膜的药物缓释性能进行了表征分析。研究表明:随着姜黄素浓度的降低,药膜的断裂强度有所提高,但是总体较为接近。说明姜黄素的加入在一定程度上降低了药膜的拉伸强度。降解液的 pH 值变化的总体趋势为先下降后上升,在第 10 天的时候达到最大值。药膜质量的损失显示出药物的加入降低了药膜的降解程度且药膜的水溶性较强,宜干燥保存。经过加酶降解的药膜降解速度明显快于不加酶组。降解中胰蛋白酶优先破坏具有 silk I 结构的无定形区,对具 silk II 结构的结晶区破坏不明显。药物缓释结果证明了药膜的药物释放效率较好,能够在规定时间内完成药物释放任务。因此,该载药支架药膜在置入人体后可能在规定时间内完成降解和进行药物释放,在结直肠癌的治疗中有一定的研究和应用价值。

参考文献:

[1] LI Gang, LI Yi, LAN Ping, et al. Biodegradable weft-knitted intestinal stents: fabrication and physical changes investigation in vitro degradation [J]. Journal of Biomedical Materials Research: Part A, 2014, 102(4): 982-990.
[2] WEITZ J, KOCH M, DEBUS J, et al. Colorectal cancer: the Lancet [J]. Lancet, 1999, 353: 1012.
[3] 谢旭升,李刚,李翼,等. 生物医用纺织肠道支架研究进

- 展[J]. 产业用纺织品, 2016, 34(10) : 1-10.
- XIE Xusheng , LI Gang , LI Yi , et al. Advances in biomedical textile intestinal stents for treatment of colorectal cancer [J]. Technical Textiles , 2016 , 34(10) : 1-10.
- [4] 刘国华. 编织结构生物可降解神经再生导管的制造及性能研究[D]. 上海: 东华大学, 2006.
- LIU Guohua. Fabrication and Properties of Braided Biodegradable Nerve Regeneration Conduits [D]. Shanghai: Donghua University , 2006.
- [5] 段巧艳, 段祥, 张焕相. 丝素蛋白在组织工程中的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(26) : 5199-5203.
- DUAN Qiaoyan , DUAN Xiang , ZHANG Huanxiang. Silk fibroin in tissue engineering [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research , 2007 , 11(26) : 5199-5203.
- [6] SHANG K , RNJAK-KOVACINA J , LIN Y , et al. Accelerated in vitro degradation of optically clear low β -sheet silk films by enzyme-mediated pretreatment [J]. Translational Vision Science & Technology , 2013 , 2(3) : 2.
- [7] KUNDU B , RAJKHOWA R , KUNDU S C , et al. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations [J]. Advanced Drug Delivery Reviews , 2013 , 65(4) : 457-470.
- [8] YOU R , ZHANG Y , LIU Y , et al. The degradation behavior of silk fibroin derived from different ionic liquid solvents [J]. Natural Science , 2013 , 5(6) : 10-19.
- [9] WANG Y , RUDYM D D , WALSH A , et al. In vivo , degradation of three-dimensional silk fibroin scaffolds [J]. Biomaterials , 2008 , 29(24) : 3415-3428.
- [10] MAKAYA K , TERADA S , OHGO K , et al. Comparative study of silk fibroin porous scaffolds derived from salt/water and sucrose/hexafluoroisopropanol in cartilage formation [J]. Journal of Bioscience & Bioengineering , 2009 , 108(1) : 68-75.
- [11] NUMATA K , CEBE P , KAPLAN D L. Mechanism of enzymatic degradation of beta-sheet crystals [J]. Biomaterials , 2010 , 31(10) : 2926-2933.
- [12] HU Y , ZHANG Q , YOU R , et al. The relationship between secondary structure and biodegradation behavior of silk fibroin scaffolds [J]. Advances in Materials Science & Engineering , 2013 , 2012(6) : 15-25.
- [13] KOJTHUNG A , MEESILPA P , SUDATIS B , et al. Effects of gamma radiation on biodegradation of Bombyx mori silk fibroin [J]. International Biodeterioration & Biodegradation , 2008 , 62(4) : 487-490.
- [14] ZHAO C , WU X , ZHANG Q , et al. Enzymatic degradation of Antheraea pernyi silk fibroin 3D scaffolds and fibers [J]. International Journal of Biological Macromolecules , 2011 , 48(2) : 249-255.
- [15] 汪丛丛, 庄静, 冯福彬, 等. 姜黄素抑制肺癌细胞血管拟态形成机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(4) : 243-246.
- WANG Congcong , ZHUANG Jing , FENG Fubin , et al. Regulative research of curcumin mediated angiogenesis mimicry of lung cancer cell by wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment , 2015 , 22(4) : 243-246.
- [16] 郭立达, 焦振霞, 宋瑛, 等. 姜黄素诱导结肠癌 LoVo 细胞凋亡的作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(13) : 2191.
- GUO Lida , JIAO Zhenxia , SONG Ying , et al. Study on functions and mechanism of curcumin in inducing colorectal carcinoma cells LoVo apoptosis [J]. China Journal of Chinese Materia Medica , 2013 , 38(13) : 2191.
- [17] 张琴, 扈永培, 焦宇虹, 等. 丝素蛋白材料的结构与生物降解行为的关系[C]//全国青年材料科学技术研讨会论文集. 2011.
- ZHANG Qin , HU Yongpei , JIAO Yuhong , et al. Relationship between structure and biodegradation behavior of silk fibroin materials [C]// National Youth Materials Science and Technology Seminar. 2011.
- [18] 吴修芳. 柞蚕丝素蛋白的体外酶降解研究[J]. 国外丝绸, 2008, 23(5) : 8-10.
- WU Xiufang. Study on enzymatic degradation of tussah silk fibroin protein in vitro [J]. Silk Textile Technology Overseas , 2008 , 23(5) : 8-10.
- [19] 陈杰. 天然丝素蛋白的酶水解研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2001.
- CHEN Jie. Study on Enzymatic Hydrolysis of Natural Silk Fibroin [D]. Suzhou: Soochow University , 2001.
- [20] YOU R , XU Y , LIU Y , et al. Comparison of the in vitro and in vivo degradations of silk fibroin scaffolds from mulberry and nonmulberry silkworms [J]. Biomedical Materials , 2015 , 10(1) : 15003.
- [21] LEFEVRE T , RPUSSEAU ME , PEZOLET M. Protein secondary structure and orientation in silk as revealed by Raman spectromicroscopy [J]. Biophysical Journal , 2007 , 92(8) : 2885-2895.
- [22] CEBE P , PARTLOW B P , KAPLAN D L , et al. Silk I and Silk II studied by fast scanning calorimetry [J]. Acta Biomaterialia , 2017 , 55: 323-332.
- [23] HINO T , TANIMOTO M , SHIMABAYASHI S. Change in secondary structure of silk fibroin during preparation of its microspheres by spray-drying and exposure to humid atmosphere [J]. Journal of Colloid & Interface Science , 2003 , 266(1) : 68-73.