

文章编号: 1000-3851(2010)02-0031-07

纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的制备及表征

唐圣奎¹, 熊杰^{*1}, 李妮¹, 谢军军², 肖红伟¹, 张红萍¹

(1. 浙江理工大学 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018; 2. 杭州师范大学 临床医学院, 杭州 310036)

摘要: 通过静电纺丝法制备出纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维, 利用扫描电镜、红外光谱仪、X 射线衍射仪对纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维形貌和结构进行表征, 并进行了拉伸测试。结果表明, 随着超细纤维中羟基磷灰石含量的增加, 纤维的直径逐渐降低, 纤维中聚己内酯的结晶逐渐变差。相比于丝素蛋白/聚己内酯超细纤维, 含有质量比为 30% 羟基磷灰石的复合超细纤维仍具有较好的力学性能。体外小鼠成纤维细胞(L929)培养表明, 纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维对细胞没有毒性。

关键词: 纳米羟基磷灰石; 丝素蛋白; 聚己内酯; 静电纺丝; 复合超细纤维

中图分类号: TB332 **文献标志码:** A

Preparation and characterization of ultrafine nano-hydroxyapatite/silk fibroin/poly(ϵ -caprolactone) composite fibers

TANG Shengkui¹, XIONG Jie^{*1}, LI Ni¹, XIE Junjun², XIAO Hongwei¹, ZHANG Hongping¹

(1. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Clinical Medical College, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China)

Abstract: Ultrafine nano-hydroxyapatite (nHA)/silk fibroin (SF)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) composite fibers were prepared via electrospinning. Scanning electron microscopy (SEM), attenuated total reflectance - Fourier transform infrared spectroscopy (ATR - FTIR) and X - ray diffraction (XRD) were used to characterize the electrospun ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers. The mechanical properties of fibers were also tested. The results show that the diameter of the fibers decreases and the crystallinity of PCL in the fibers becomes poor with increasing nHA content in the fibers. Compared with SF/PCL fibers, the mechanical properties of ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers are still well when the nHA mass ratio is 30% in the fibers. In vitro mouse fibroblast (L929) cell culture indicates that the ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers are non-toxicity.

Keywords: nano-hydroxyapatite; silk fibroin; poly(ϵ -caprolactone); electrospinning; ultrafine composite fiber

静电纺丝是一种简单、快速而高效的制备超细纤维技术, 所得超细纤维膜具有孔隙率高、比表面积大等优点, 使其在生物医用材料、过滤材料、传感器材料等领域有很好的应用前景。

丝素蛋白具有良好的力学性能、生物相容性以及控制生物降解性^[1], 可以通过静电纺丝法制备出丝素蛋白纳米纤维^[2-3], 但电纺丝素蛋白纳米纤维的韧性较差^[4], 一定程度上限制了其应用。聚己内

酯是一种可生物降解性的、半结晶性^[5]的高聚物, 具有良好的生物相容性, 并且电纺聚己内酯超细纤维可以应用于血管组织工程支架^[6-7], 具有良好的韧性, 可以改善丝素蛋白的脆性。羟基磷灰石是骨组织中大量含有的一种无机物质, 其化学式为 $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 具有良好的生物相容性^[8], 可以用来制备骨组织工程支架。目前, 可以通过多种方法制备出羟基磷灰石/丝素蛋白复合材料^[9-10],

收稿日期: 2009-04-08; 收修改稿日期: 2009-07-02

基金项目: 973 计划前期研究课题(2008CB617506); 长江学者和创新团队发展计划资助(IRT0654); 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室开放基金资助项目(2006003)

通讯作者: 熊杰, 教授, 博士生导师, 主要从事纤维及其复合材料研究工作 E-mail: jxiong@zstu.edu.cn

但尚未见静电纺丝法制备纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的报道。

由于骨组织中含有约 70% 的无机物, 其中主要为羟基磷灰石^[6], 结合丝素蛋白与羟基磷灰石优良的生物相容性以及聚己内酯优良的力学性能, 本文作者通过静电纺丝法制备纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维, 对其进行结构和性能表征, 旨在得到一种保持良好力学性能的同时, 其中羟基磷灰石含量尽可能多(不超过 70%)的组织工程支架材料, 为其后续应用于骨组织工程支架作参考。

1 实验方法

1.1 实验材料与试剂

桑蚕丝(浙江桐庐), 聚己内酯(深圳光华伟业有限公司, 黏均分子量 50000), 纳米羟基磷灰石(南京埃普瑞纳米材料有限公司, 宽 20 nm, 长 150 nm, 99%); 试剂: 六氟异丙醇(盐城冬阳生物制品有限公司, 99%), 氯化钙(衢州巨化试剂有限公司, 分析纯), 碳酸钠(成都东金化学试剂有限公司, 分析纯), 乙醇(杭州高晶精细化工有限公司, 分析纯); 透析袋(44MD, 美国联合碳化物公司); 高糖 DMEM 培养基(美国 Gibco 公司)+青霉素钠 100U/ML+硫酸链霉素 100U/ML+10%胎牛血清(杭州四季青公司); 噻唑蓝(MTT, Sigma 公司); 胰蛋白酶(Amresco 公司); 二甲基亚砜(Genview 公司); PBS(Amresco 公司)。

1.2 静电纺丝

桑蚕丝于质量分数为 0.05% 的 Na_2CO_3 水溶液中煮沸 30 min, 重复 3 次, 以去除丝胶。丝素蛋白用 $\text{CaCl}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 三元溶剂(1:8:2 摩尔比)于 $75\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 溶解(浴比 1:50), 溶液经透析袋透析、过滤后, 再冷冻干燥制得海绵状多孔再生丝素蛋白。

将丝素蛋白与聚己内酯按质量比 70:30 配好, 溶于六氟异丙醇中, 得到质量分数为 8% 的丝素蛋白/聚己内酯纺丝液; 向其中分别加入相当于纺丝液中丝素蛋白和聚己内酯质量和的 10%、20%、30%、40%、50% 的纳米羟基磷灰石, 超声 2 h, 得到分散好的纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯纺丝液。在纺丝电压 15 kV、纺丝距离 12 cm、挤出速率 0.01 mL/min 的条件下采用实验室自制静电纺丝装置进行静电纺丝(高压电源, FC60P2, 0~

60 kV, Glassman High Voltage, Inc.; 注射泵, KDS220, KD Scientific, Inc.)。纺得的纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维置于真空干燥箱中静置备用。所制备的复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的质量比分别为 0%、10%、20%、30%、40%、50%, 相应地用 nHA/SF/PCL-0、nHA/SF/PCL-10、nHA/SF/PCL-20、nHA/SF/PCL-30、nHA/SF/PCL-40、nHA/SF/PCL-50 表示。

1.3 纤维形态与结构测试

用 JSM-5610LV 型扫描电镜(JEOL, 日本)观察静电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的形态; 用 Image-Pro Plus 图像分析软件测量纤维的直径; 用 ARL-X' TRA 型 X 射线衍射仪(Thermo ARL, 美国)对电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维膜进行测试, 扫描范围 $2\theta=5^\circ\sim 50^\circ$; 用 Nicolet5700 型红外光谱仪(Thermo Nicolet, 美国)对电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维膜进行测试, 光谱范围 $500\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 。

1.4 拉伸测试

将电纺纤维膜裁剪成大小为 $5\text{ mm} \times 40\text{ mm}$ 的矩形状, 用 Instron 5543 型拉力机(Instron Co., 美国)对试样进行单轴拉伸。试样的夹持距离为 20 mm, 拉伸速率为 5 mm/min。

1.5 细胞培养

将复苏后的 L929 细胞置于含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中, 放置于体积分数 5% CO_2 、 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、饱和湿度培养箱内中培养 2~3 天后, 细胞长到对数生长期, 用 2.5% 胰蛋白酶消化, 用高糖 DMEM 培养液重悬, 制成单细胞悬液。细胞接种前, 将电纺纤维膜切割成圆片状($\Phi 6\text{ mm}$ 、厚度 $20\sim 30\text{ }\mu\text{m}$), 在 75% 的酒精溶液中浸泡 24 h 消毒处理, 然后再置于紫外灯下照射 1 h, 自然风干。将浓度为 5.5×10^5 个/mL 的细胞悬液每孔 100 μL 接种到电纺 nHA/SF/PCL-0、nHA/SF/PCL-30 纤维膜和空白孔(TCP)中, 20 min 后每孔加细胞培养液每孔 100 μL 淹没材料, 第 4 天换液 1 次。培养后第 1、4、7 天各取出一块培养板进行 MTT 检测。每孔加入 MTT(5 mg/mL)40 μL , $37\text{ }^\circ\text{C}$ 继续孵育 4 h。吸尽上清液, 每孔加入二甲基亚砜 150 μL , 振荡 10 min, 反应完全后移走材料, 在 550 nm 波长下测量每孔的吸光度。每次均做 3 个平行实验试样, 取其平均值。

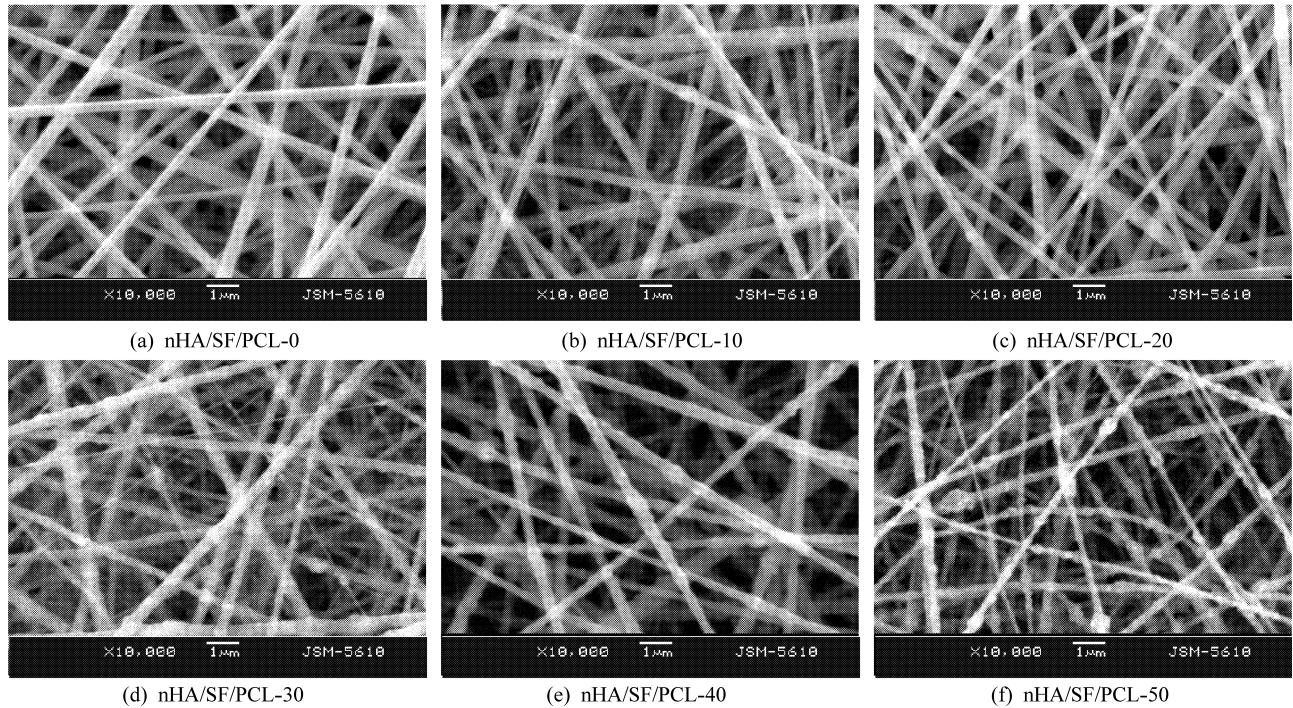


图 1 电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维扫描电镜照片

Fig. 1 SEM images of electrospun ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers with different mass ratios of nHA in the fiber

常规培养 1 天和 7 天后取出电纺 nHA/SF/PCL-30 纤维膜, 37℃、PBS 漂洗 3 次, 2.5% 戊二醛固定, 锇酸处理, 30%~100% 梯度乙醇脱水, 真空干燥, 表面喷金处理后扫描电镜 (Stereoscan260, Cambridge, 英国) 观察。

2 结果与讨论

2.1 纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的形态

在纺丝液质量分数为 8%、纺丝电压为 15 kV、纺丝距离为 12 cm、挤出流率为 0.01 mL/min 的条件下, 通过静电纺丝制备的一系列羟基磷灰石不同含量的纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的扫描电镜照片如图 1 所示。从电镜照片上可以明显观察到, 由于纳米羟基磷灰石的加入, 复合超细纤维中含有白色物质, 即纳米羟基磷灰石。在纳米羟基磷灰石含量不是很高时, 纳米羟基磷灰石可以很好地分散在复合超细纤维中, 没有明显的团聚发生。但随着纳米羟基磷灰石含量逐渐增加至 50% 时, 复合超细纤维轴向有明显的纳米羟基磷灰石团聚物出现。图 2 为电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的

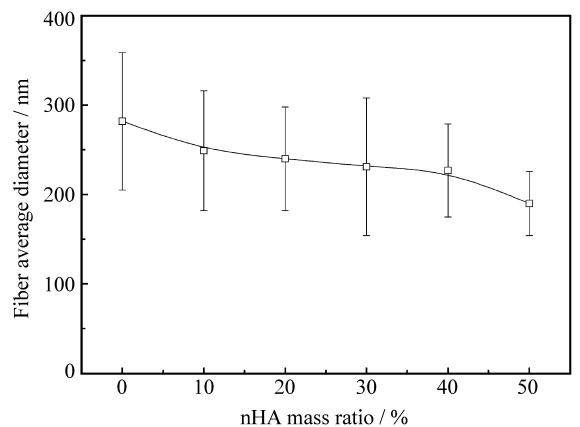


图 2 不同纳米羟基磷灰石含量下电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的平均直径变化图

Fig. 2 Relationship between fibers average diameter and nHA mass ratio in the ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers

含量对复合超细纤维的直径的影响。随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石含量的增加, 纤维的直径逐渐减小。

2.2 复合超细纤维的结构表征

图 3 为电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的红外光谱图。在 1655 cm^{-1} 和 1542 cm^{-1} 附近的峰分别为复合超细纤维中再生丝

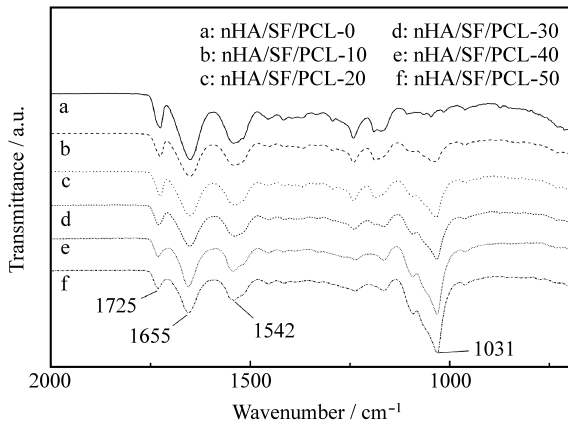


图3 电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的红外光谱图

Fig. 3 ATR-FTIR spectra of electrospun ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers

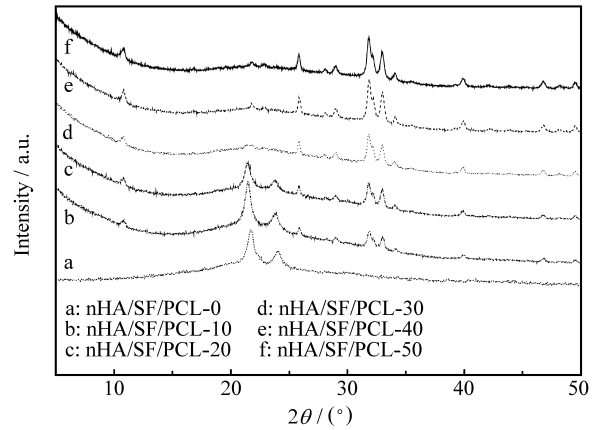


图4 电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的X射线衍射图

Fig. 4 XRD patterns of electrospun ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers

素蛋白的酰胺 I 和酰胺 II 的吸收峰^[11]。可以看出,复合超细纤维中丝素蛋白的结构主要为无定形结构。在 1725 cm⁻¹、1241 cm⁻¹、1190 cm⁻¹、1160 cm⁻¹左右的吸收峰分别为复合超细纤维中聚己内酯 C=O 的伸缩振动峰、C—O—C 的不对称伸缩振动峰、OC—O 的伸缩振动峰和 C—O—C 的对称伸缩振动峰^[12]。而在 1031 cm⁻¹左右的吸收峰则为复合超细纤维中羟基磷灰石的 PO₄³⁻ 的伸缩振动峰^[13], 并且 PO₄³⁻ 的伸缩振动峰随着复合超细纤维中羟基磷灰石含量的增多而逐渐变大, 表明复合超细纤维中含有羟基磷灰石组分, 并且含量逐渐增多。

图4为电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的X射线衍射图谱。由图4可以看出, 曲线上没有出现明显的丝素蛋白的β折叠衍射峰, 表明复合超细纤维中再生丝素蛋白主要为无定形结构, 与红外测试得到的结果相一致。图4中曲线在 21.6°(110)和 23.9°(200)附近的衍射峰为聚己内酯的特征衍射峰^[14]。当复合超细纤维中纳米羟基磷灰石质量比低于 20%时, 21.6°和 23.9°附近的衍射峰较明显(曲线 a、b、c)。这表明当复合超细纤维中纳米羟基磷灰石质量比低于 20%时, 纤维中聚己内酯的结晶依然较好。随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石质量比达到 30%或更高时, 21.6°和 23.9°附近只有非常微弱的衍射峰出现, 这表明纳米羟基磷灰石的进一步加入限制了聚己内酯的结晶, 使得此时纤维中聚己内酯主要为无定形结构。由以上结果可见, 随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石含量的增加, 纤维中聚己内酯的结晶能力

逐渐变差。Jiang 等^[15]发现了类似的结果, 当增加 SiO₂/聚己内酯共混物中 SiO₂含量时, 聚己内酯的结晶逐渐变差, 他们认为这是由于随无机物的加入, 聚己内酯分子链的运动也逐渐受到限制。图4中曲线在 25.8°(002)和 31.8°(211)附近的衍射峰为纳米羟基磷灰石的特征衍射峰^[16]。随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石含量的增加, 25.8°和 31.8°处的衍射峰的强度也逐渐增强。

2.3 复合超细纤维的拉伸测试

图5为电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的应力-应变曲线。表1为电纺纤维的力学性能数据。与电纺 nHA/SF/PCL-0 超

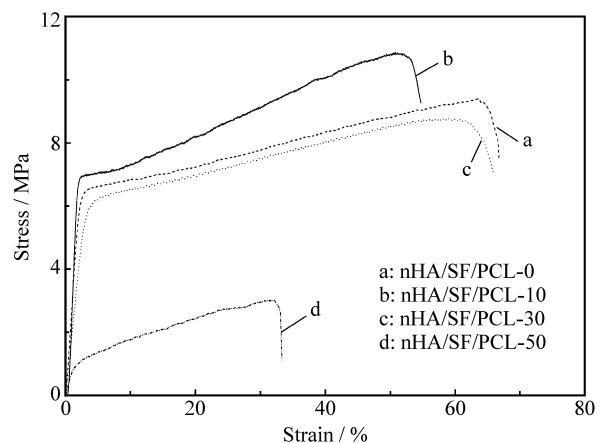


图5 电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的应力-应变曲线

Fig. 5 Stress-strain curves of electrospun ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers

细纤维相比, 电纺 nHA/SF/PCL-10 和 nHA/SF/PCL-20 复合超细纤维的拉伸强度略有提高, 杨氏模量随纳米羟基磷灰石含量的增加逐渐提高, 而断裂伸长率逐渐下降, 复合超细纤维逐渐变得硬而脆, 其原因可能是由于硬颗粒增强所致, 因为纳米羟基磷灰石是一种典型的无机硬颗粒^[13]。随着纳米羟基磷灰石质量比增加到 30% 及以上时, 复合超细纤维的拉伸强度均低于 nHA/SF/PCL-0 超细纤维, 并且随纳米羟基磷灰石含量的增加, 拉伸强度逐渐下降, 这是由于纳米羟基磷灰石含量多, 易于团聚, 使得纤维易于破坏^[11]。当复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的质量比达到 30% 或 40% 时, 纤维的断裂伸长率虽仍低于电纺 nHA/SF/PCL-0 超细纤维, 但与电纺 nHA/SF/PCL-20 复合超细纤维相比没有进一步下降, 反而又有所上升, 杨氏模量也逐渐下降, 纤维变得软而韧。由 XRD 的结果可知, 当复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的质量比为 20% 时, 聚己内酯的结晶性依然较好; 但当复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的质量比达到 30% 或 40% 时, 聚己内酯基本呈无定形结构, 这使得电纺 nHA/SF/PCL-30 和 nHA/SF/PCL-40 复合超细纤维的断裂伸长率又有所提高。随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的质量比进一步由 30% 增加到 50% 时, 纳米羟基磷灰石在纤维中团聚现象逐渐严重(见图 1), 纤维的断裂伸长率逐渐下降。当复合超细纤维中纳米羟基磷灰石的质量比为 50% 时, 纳米羟基磷灰石在复合超细纤维中团聚现象严重(见图 1), 纤维极易破坏, 使其拉伸强度、断裂伸长率以及杨氏模量都明显下降。

表 1 电纺纳米羟基磷灰石/丝素蛋白/聚己内酯复合超细纤维的力学性能数据 ($n=5$)

Table 1 Mechanical properties of electrospun ultrafine nHA/SF/PCL composite fibers ($n=5$)

No.	Tensile strength/MPa	Elongation at break/%	Young's modulus/MPa
nHA/SF/PCL-0	9.3±0.6	66.3±4.5	96±4
nHA/SF/PCL-10	11.2±1.1	55.6±6.2	114±17
nHA/SF/PCL-20	11.4±1.2	42.4±0.6	130±19
nHA/SF/PCL-30	9.1±1.0	60.3±6.3	62±9
nHA/SF/PCL-40	5.0±0.3	57.3±5.4	19±3
nHA/SF/PCL-50	3.3±0.3	34.3±3.4	16±3

注: n 为实验次数。

与电纺 nHA/SF/PCL-0 超细纤维相比, 所制备的电纺 nHA/SF/PCL-10、nHA/SF/PCL-20、nHA/SF/PCL-30 复合超细纤维的拉伸强度和断裂伸长率都没有因为加入纳米羟基磷灰石而明显降低(见表 1), 仍具有较好的力学性能。显然, 电纺 nHA/SF/PCL-30 复合超细纤维保持了良好的力学性能, 同时其中羟基磷灰石含量最高, 其组成最接近于骨组织。

2.4 复合超细纤维的细胞增殖性能

依据 ISO 10993-5 测试方法, 用 L929 细胞来检测所制备的电纺 nHA/SF/PCL 复合超细纤维对细胞的毒性情况^[13]。图 6 为由 MTT 检测得到的 L929 细胞在电纺 nHA/SF/PCL-0、nHA/SF/PCL-30 纤维膜和 TCP 上的增殖性能。随着培养天数的增加, L929 细胞在电纺 nHA/SF/PCL-0 和 nHA/SF/PCL-30 复合超细纤维膜上的增殖越来越好。在培养 1 天和 4 天后, 细胞在电纺 nHA/SF/PCL-30 复合超细纤维膜上的增殖略好于电纺 nHA/SF/PCL-0 复合超细纤维膜。当培养天数增加到 7 天时, 细胞在电纺 nHA/SF/PCL-30 复合超细纤维膜上的增殖要明显好于电纺 nHA/SF/PCL-0 复合超细纤维膜, 显示了羟基磷灰石在细胞增殖方面的潜在影响, 羟基磷灰石的加入显著提高了复合超细纤维膜对细胞的增殖性能。在培养 7 天后, L929 细胞在电纺 nHA/SF/PCL-30 复合超细纤维膜上的增殖性能与其在 TCP 上的增殖性能

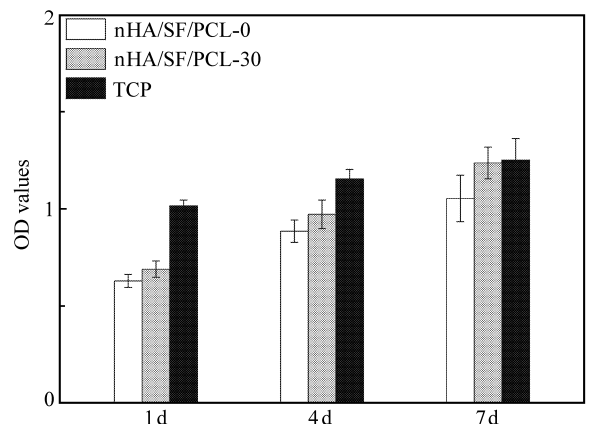


图 6 L929 细胞在电纺 nHA/SF/PCL-0、nHA/SF/PCL-30 纤维膜和 TCP 上的增殖性能 ($n=3$, n 为实验次数)

Fig. 6 Proliferation of L929 cells on electrospun nHA/SF/PCL-0, nHA/SF/PCL-30 fiber membranes and control TCP (Data are presented as mean ± standard deviation with $n=3$)

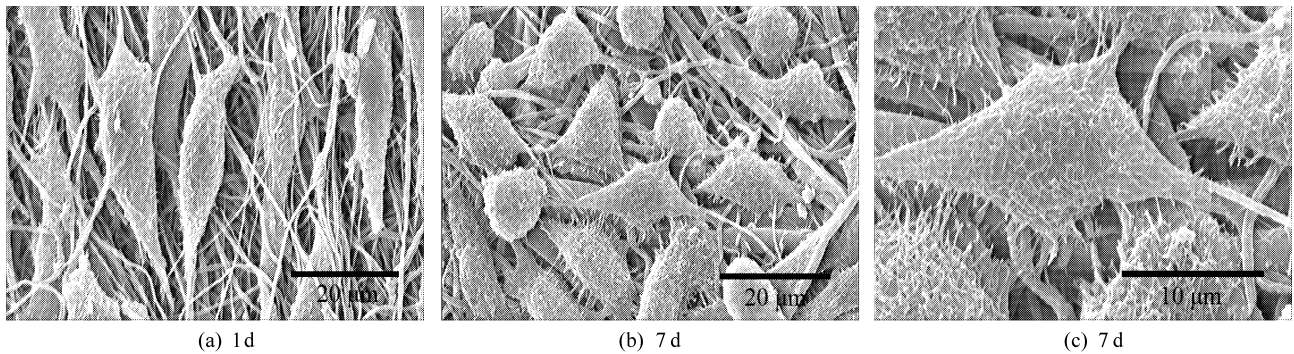


图7 L929细胞在电纺nHA/SF/PCL-30纤维膜上增殖情况的电镜照片

Fig.7 SEM images of L929 cells proliferated on electrospun nHA/SF/PCL-30 fiber membranes

基本相同,表明电纺nHA/SF/PCL-30复合超细纤维膜对细胞是无毒的。

图7为L929细胞在电纺nHA/SF/PCL-30纤维膜上增殖情况的电镜照片,进一步证实了MTT检测所得的结论。L929细胞在电纺nHA/SF/PCL-30复合超细纤维膜上生长良好,支架表面细胞数量多,呈梭形、多角形或三角形,部分未伸展的圆形细胞堆集在上层,细胞表面有大量绒毛生长,并有彼此分开的丝状伪足产生,伪足与复合超细纤维膜间紧密相联,细胞之间互相连接,并且随着培养天数的增加,复合超细纤维表面的细胞数明显增多,表明L929细胞可以很好地在电纺nHA/SF/PCL-30复合超细纤维膜上生长增殖。进一步证实电纺nHA/SF/PCL-30复合超细纤维膜对细胞无毒性,具有良好的细胞相容性。

3 结论

(1) 通过静电纺丝法成功制备出丝素蛋白/聚己内酯/纳米羟基磷灰石复合超细纤维,随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石含量的增加,纤维的直径逐渐下降。

(2) 复合超细纤维中含有纳米羟基磷灰石,其中丝素蛋白主要为无定形结构。随着复合超细纤维中纳米羟基磷灰石含量的增加,纤维中聚己内酯的结晶逐渐变差,羟基磷灰石的结晶逐渐变好。

(3) 在制备的5种电纺nHA/SF/PCL复合超细纤维中,电纺nHA/SF/PCL-30复合超细纤维是在保持其力学性能与电纺nHA/SF/PCL-0超细纤维相比没有明显下降的同时,其中羟基磷灰石含量最高。

(4) L929细胞可以很好地在nHA/SF/PCL-

30复合超细纤维膜上生长增殖,nHA/SF/PCL-30复合超细纤维膜对细胞无毒性。对复合超细纤维的初步表征可为后续其在组织工程支架上的研究应用提供参考。

参考文献:

- [1] Zhang X H, Baughman C B, Kaplan D L. In vitro evaluation of electrospun silk fibroin scaffolds for vascular cell growth [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(14): 2217-2227.
- [2] Sukigara S, Gandhi M, Ayutsede J, et al. Regeneration of bombyx mori silk by electrospinning I: Processing parameters and geometric properties [J]. *Polymer*, 2003, 44(19): 5721-5727.
- [3] Ayutsede J, Gandhi M, Sukigara S, et al. Regeneration of bombyx mori silk by electrospinning III: Characterization of electrospun nonwoven mat [J]. *Polymer*, 2005, 46(5): 1625-1634.
- [4] Chen Chen, Cao Chuanbao, Ma Xilan, et al. Preparation of non-woven mats from all-aqueous silk fibroin solution with electrospinning method [J]. *Polymer*, 2006, 47(18): 6322-6327.
- [5] Lee S J, Oh S H, Liu J, et al. The use of thermal treatments to enhance the mechanical properties of electrospun poly(ϵ -caprolactone) scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(10): 1422-1430.
- [6] Lee S J, Liu J, Oh S H, et al. Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(19): 2891-2898.
- [7] Tillman B W, Yazdani S K, Lee S J, et al. The in vivo stability of electrospun polycaprolactone-collagen scaffolds in vascular reconstruction [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(4): 583-588.
- [8] Zhang Y H, Venugopal J R, El-Turki A, et al. Electrospun biomimetic nanocomposite nanofibers of hydroxyapatite/chitosan for bone tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2008,

- 29(32): 4314-4312.
- [9] 王 刚, 姚金波, 周旭光, 盛 楠. “一步法”制备纳米相丝素蛋白/羟基磷灰石生物复合材料 [J]. 复合材料学报, 2008, 25(6): 136-139.
- Wang Gang, Yao Jinbo, Zhou Xuguang, Sheng Nan. Preparation of nano silk fibroin/hydroxyapatite biological composite by “one - step” method [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2008, 25(6): 136-139.
- [10] 杨 辉, 张 林, 张 宏, 徐可为. 丝素蛋白/羟基磷灰石复合材料的制备及性能表征 [J]. 复合材料学报, 2007, 24(3): 141-146.
- Yang Hui, Zhang Lin, Zhang Hong, Xu Kewei. Preparation and characterization of the silk fibroin/hydroxyapatite composites [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2007, 24(3): 141-146.
- [11] Kaplan D L, Fossey S A, Mello C M, et al. Biosynthesis and processing of silk proteins [J]. MRS Bulletin, 1992, 17(1): 41-45.
- [12] Elzubair A, Elias C N, Suarez J C M, et al. The physical characterization of a thermoplastic polymer for endodontic obturation [J]. Journal of Dentistry, 2006, 34(10): 784 - 789.
- [13] Yang Dongzhi, Jin Yu, Ma Guiping, et al. Fabrication and characterization of chitosan/PVA with hydroxyapatite biocomposite nanoscaffolds [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 110(6): 3328-3335.
- [14] Chen E C, Wu T M. Isothermal crystallization kinetics and thermal behavior of poly(ϵ -caprolactone)/multi-walled carbon nanotube composites [J]. Polymer Degradation and Stability, 2007, 92(6): 1009-1015.
- [15] Jiang Shichun, Ji Xiangling, An Lijia, et al. Crystallization behavior of PCL in hybrid confined environment [J]. Polymer, 2001, 42(8): 3901-3907.
- [16] Du Chunling, Jin Jun, Li Yucheng, et al. Novel silk fibroin/hydroxyapatite composite films; Structure and properties [J]. Materials Science and Engineering C, 2009, 29(1): 62-68.