DOI:10.16016/j.1000-5404.201606081

氧化锌/聚乙烯醇纳米纤维的制备及对创伤的治疗作用

胡 敏[1],李沉纹[2],明 月[2],石三军[2],李紫薇[2],卢来春[1] (400038 重庆,第三军医大学药学院教学实验中心[1];400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所药剂科[2])

[摘要] **目的** 探讨静电纺丝技术制备氧化锌/聚乙烯醇(zinc oxide/polyvinyl alcohol,ZnO/PVA)纳米纤维作为新型创伤敷料的可行性,考察其性能及对创伤愈合的促进作用。**方法** 以溶液-凝胶法制备氧化锌纳米粒,再通过静电纺丝技术制备载有氧化锌纳米粒(1%、3%、5%)的 ZnO/PVA 纳米纤维并对其进行交联,采用扫描电镜和透射电镜对氧化锌纳米粒和纳米纤维进行观察,同时检测 ZnO/PVA 纳米纤维的透气性和吸水率,考察 ZnO/PVA 纳米纤维对金黄色葡萄球菌的抑制作用和对人皮肤成纤维细胞的毒性;建立大鼠皮肤创面模型,观察 ZnO/PVA 纳米纤维对创面的愈合作用。**结果** 氧化锌纳米粒粒径为(64.69±20.47)nm,ZnO/PVA 纳米纤维直径为(324.22±144.80)nm,纳米纤维直径较细且较为均一,交联效果明显;ZnO/PVA 纳米纤维的透气性和吸水率均优于无纺布,差异具有统计学意义($P<0.05$);ZnO/PVA 纳米纤维对金葡萄的抑制作用较强;1% 的 ZnO/PVA 纳米纤维无细胞毒性;ZnO/PVA 纳米纤维能够促进创伤愈合,其促愈合作用优于创可贴($P<0.05$)。**结论** 采用静电纺丝技术制备的 ZnO/PVA 纳米纤维透气性好,吸水性强,抑菌作用较强,作用安全,能够促进创伤的愈合,有望成为理想的新型创伤敷料。

[关键词] 氧化锌;纳米粒;聚乙烯醇;静电纺丝;创伤敷料
[中图法分类号] R641;R944.9 [文献标志码] A

Preparation of zinc oxide/polyvinyl alcohol nanofibers and its therapeutic effects on wound in rats

Hu Min[1], Li Chenwen[2], Ming Yue[2], Shi Sanjun[2], Li Ziwei[2], Lu Laichun[1]([1]Teaching Experimental Center, College of Pharmacy, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Pharmacy, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To prepare a new wound dressing based on zinc oxide/polyvinyl alcohol (ZnO/PVA) nanofibers by electrospinning, and determine its properties and effects on promoting wound healing. **Methods** The Zinc Oxide nanoparticles (ZnONPs) were prepared by a solution-gel method. ZnO/PVA nanofibers containing nano-Zinc Oxide (1%, 3% and 5% respectively) were prepared by electrospinning followed by a cross-linking process. The appearance features of ZnONPs and nanofibers were observed by scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The permeability and water absorption of ZnO/PVA nanofibers were also measured. The antibacterial effect of ZnO/PVA nanofibers on *Staphylococcus aureus* and its cytotoxicity to human fibroblast cells were investigated. The skin wounds on rat model were established and the effect of ZnO/PVA nanofibers on the wound healing was investigated. **Results** The size of ZnONPs was 64.69±20.47 nm, and the diameter of ZnO/PVA nanofibers was 324.22±144.80 nm. The nanofibers were thin and uniform with obvious crosslinking, with better permeability and water absorption when compared with non-woven fabrics ($P<0.05$). The results of

[基金项目] 重庆市应用开发项目(CSTC2014yykfA110022)
[通信作者] 卢来春,E-mail:lulaicq@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20161021.1700.034.html

bacteriostatic test showed that ZnO/PVA nanofibers had strong inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*. No cytotoxicity was observed on human fibroblast cells by 1% ZnO/PVA nanofibers. *In vivo* study showed that ZnO/PVA nanofibers could promote wound healing and its promoting wound healing ability was better than woundplast. **Conclusion** Electrospinning-prepared ZnO/PVA nanofibers possess good permeability, strong water absorption and effective antimicrobial activity. ZnO/PVA nanofibers can promote wound healing, and are expected to be a new wound dressing.

[**Key words**] zinc oxide; nanoparticle; polyvinyl alcohol; electrospinning; wound dressing

Supported by the Chongqing Application Development Project (CSTC2014yykfA110022). Corresponding author: Lu Laichun, E-mail: lulaicq@163.com

创伤是由手术、碰撞等多种原因引起的皮肤或组织的损伤[1]。理想的创伤敷料应具有透气性能好、吸收渗出液能力强、抑菌效果好和促进创伤愈合等特点[2]。相较于传统敷料,静电纺丝纳米纤维具有孔隙率高、比表面积大等优点[3]。聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)因其作用安全、细胞相容性好等优点,成为制备静电纺丝纳米纤维的理想材料[4]。氧化锌纳米粒(zinc oxide nanoparticles, ZnONPs)具有抗菌作用强和生物活性高的特点,已被广泛应用于生物医药领域[5-6]。本文采用溶液-凝胶法制备 ZnONPs[7],再通过静电纺丝技术制备 ZnO/PVA 纳米纤维,考察其性能及对创伤愈合的促进作用,探讨其成为新型创伤敷料的可行性。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

SD 大鼠(第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心),无水醋酸锌(上海 Aladdin 公司),草酸(国药集团化学试剂有限公司),聚乙烯醇(美国 Sigma-Aldrich 公司),MHA、MHB 培养基(北京 Solarbio 公司),DMEM 培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清(美国 HyClone 公司),商用创可贴(云南白药集团无锡药业有限公司);高压静电纺丝机(TL-Pro-BM 型,深圳市通力微纳科技有限公司),气浴恒温振荡器(SHZ-82 型,江苏金坛中大仪器厂),扫描电镜(S-3000N 型,日本 HITACHI 公司),紫外-可见分光光度仪(TU-1810 型,北京普析通用仪器有限责任公司),原子吸收分光光度计(Z-5000 型,日本 HITACHI 公司)。

1.2 氧化锌纳米粒的制备与表征

ZnONPs 的制备采用溶液-凝胶法:将 2.75 g 无水醋酸锌加入到含 50 mL 乙醇的圆底烧瓶中,充分搅拌至均匀,升温至 50 ℃,搅拌 1 h。迅速加入 1.89 g 草酸,继续搅拌并回流 2 h,形成白色凝胶状产物。过滤,80 ℃条件下干燥 10 h 以去除其中的水分和乙醇等。待冷却,置于研钵中充分研磨,再转移至坩埚,在575 ℃条件下煅烧 1.5 h。

采用扫描电镜和紫外-可见分光光度仪测定 ZnONPs 的物理理化性质。ZnONPs 的形态结构观察:将制得的样品吹打于导电胶上,在扫描电压为 1.0 kV 条件下观察。ZnONPs 的最大吸收波长测定:称取 2 ~ 5 mg ZnONPs 于小管中,加入 8 mL 双蒸水,超声 15 min,于紫外-可见分光光谱仪中测定。

1.3 静电纺丝技术制备 ZnO/PVA 纳米纤维

称取 15 g PVA 加入 85 mL 双蒸水中,置于 75 ℃水浴搅拌至溶解;加水补至 100 mL,搅拌均匀后制得 15% PVA 溶液。称量 0、50、150、250 mg 的 ZnONPs 分别加入 5 mL、15% PVA 溶液中,搅拌均匀后通过静电纺丝技术分别制得 PVA、1% ZnO/PVA、3% ZnO/PVA 和 5% ZnO/PVA 纳米纤维。静电纺丝过程:将搅拌均匀后的聚合物溶液加入喷头内径为 0.8 mm 的注射器中,在 25 kV 高压静电场、推进速度为 0.5 mL/h、喷头到接收屏的接收距离为 15 cm 条件下进行纺丝,将搜集到的纳米纤维置于 40 ℃真空干燥器干燥 24 h。

1.4 ZnO/PVA 纳米纤维的交联

纳米纤维的交联采用戊二醛交联法[2]。将 5% 的戊二醛溶液倒于小型干燥器底部,密封干燥器并隔夜放置以制得戊二醛蒸气,再将 ZnO/PVA 纳米纤维用物理方法处理平整,将其置于制得的戊二醛蒸气中交联 24 h,再将交联的纳米纤维于 75 ℃加热 4 h,以除去多余的戊二醛。

1.5 扫描电镜(SEM)观察 ZnO/PVA 纳米纤维

取一小块制得的纳米纤维贴于导电胶并固定在样品台上,在金箔中喷金约 10 s,于扫描电压 5.0 kV 条件下观察。

1.6 透射电镜观察 ZnO/PVA 纳米纤维中 ZnONPs 的分布

将铜网置于静电纺丝搜集板上,待喷丝约 1 min 后,取下铜网,置于 37 ℃真空干燥器中干燥 2 h,待冷却后置于透射电镜(TEM)下观察。

1.7 ASTME 96 干燥剂法测定 ZnO/PVA 纳米纤维的透气性能

用小烧杯装载一定量的变色硅胶,纳米纤维封口,将此小烧杯置于相对湿度为75%(室温下的饱和氯化钠水蒸气)环境中,置于 37 ℃孵箱,放置 24 h[8]。根据质量的变化按照以下的公式计算:$R_{WVP} = W/(A \times \Delta p)$、$P = R_{WVP} \times d$。其中,$R_{WVP}$表示水蒸气渗透速率,单位为 g/(h·cm³·mmHg);W 表示水蒸气渗透过纺丝膜的质量,单位为 g/h;A 表示杯口的面积,单位为 cm^2(小烧杯杯口面积为 11.93 cm^2);Δp 表示纺丝膜两侧的水蒸气压差值,单位为 mmHg(Δp 为23.8 mmHg);P 表示水蒸气渗透率;d 表示纺丝膜的厚度,单位为 mm(纳米纤维膜的厚度为 0.22 mm)。

1.8 ZnO/PVA 纳米纤维的吸水率测定

称取适量纳米纤维膜浸没在 pH = 7.4 的磷酸盐缓冲液中,在 37 ℃条件下放置 24 h。按照以下公式计算:吸水率 = (Wt − Wd)/Wo × 100%。Wt 表示浸没之后的纤维膜湿质量;Wd 表示浸没之后的纤维膜干质量;Wo 表示最初的纤维膜质量。

1.9 ZnO/PVA 纳米纤维中 ZnONPs 的累积释放度

称取 150 mg 交联 ZnO/PVA 纳米纤维(1% ZnO/PVA)用于 ZnONPs 的释放行为考察。将上述纳米纤维浸没在 100 mL 醋酸盐缓冲液(pH = 5.5)中,于 37 ℃、75 r/min 的恒温气浴振荡器中振摇,在振摇时间(t) = 0、4、8、16、24、48、72 h 时分别取样 1 mL(每次取样后补加 1 mL 双蒸水),用双蒸水稀释 50 倍,采用原子吸收分光光度计测定,测定的值记为 Ct。另称取 150 mg、1% ZnO/PVA 纳米纤维并采取以上相同的操作,在振摇时间(t) = 120 h 时取样 1 mL,用双蒸水稀释 50 倍,采用原子吸收分光光度计测定,测定的值记为 C_0(载药量)。累积释放度按以下公式计算:累积释放度 = $Ct/C_0 \times 100\%$。

1.10 ZnO/PVA 纳米纤维的抑菌性能

选取创伤感染常见的金黄色葡萄球菌作为实验菌,细菌培养基采用 MHA 和 MHB 培养基。裁剪并称取纳米纤维(PVA,1%、3%、5% ZnO/PVA)各 20 mg(圆片状,直径为 14 mm),紫外照射双面各 1 h,然后将其贴在表面涂有 100 μL、10^5 cfu/mL 金葡菌菌悬液的 MHA 培养基表面,置于 37 ℃孵箱中培养 24 h 后观察抑菌环大小。

称取纳米纤维(PVA,1%、3%、5% ZnO/PVA)各 30 mg,紫外照射双面各 1 h,置于 10 mL、10^5cfu/mL 金葡菌菌悬液的培养管中,在 37 ℃、75 r/min 的恒温气浴振荡器中培养,在 0、6、12、24 h 时间点取样 150 μL 加入到 96 孔板中,在 600 nm 处测定光密度值。

1.11 MTT 法检测 ZnO/PVA 纳米纤维的细胞毒性

采用人皮肤成纤维细胞作为实验细胞,采用 MTT 法检测 ZnO/PVA 纳米纤维的细胞毒性。用紫外光照射纳米纤维(PVA,1%、3%、5% ZnO/PVA)双面各 1 h,将纳米纤维各 15 mg(约 9.24 cm^2)浸没于 30 mL、DMEM 培养基中,在 37 ℃孵化培养箱放置 24 h 以制得 0.5 mg/mL 提取液。用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤浸提液。阴性对照(完全培养基)不作处理。用完全培养基在96 孔板培养人皮肤成纤维细胞约为 10^5/孔,培养环境为 37 ℃、5% CO_2。用 160 μL 的浸提液(含血清和双抗)替换原来的培养基。在 37 ℃、5% CO_2孵化培养箱分别培养 2 d 和 5 d。去除浸提液,加入 160 μL 培养基和 40 μL、MTT(2.5 mg/mL),置于孵化培养箱中放置 4 h,吸弃培养基,加入 200 μL 二甲亚砜。于 37 ℃、50 r/min 摇床振摇 10 min,在酶标仪 490 nm 处测定光密度值。

1.12 ZnO/PVA 纳米纤维的促愈作用观察

本研究采用体质量约 200 g 的雄性 SD 大鼠作为实验动物。将纳米纤维在紫外光下照射双面各 1 h 备用。将 5 组大鼠背部去毛,消毒,在背部脊柱两侧制造 4 处 1 cm × 1 cm 的伤口,按照顺序(左前,右前,左后,右后)依次贴上 ZnO/PVA 纳米纤维、商用创可贴、PVA 纳米纤维和纱布,每天换药 1 次,在给药后第 0、7、14 天和第 21 天记录伤口面积大小,并在给药后第 14 天取下愈合创面进行组织切片并做 HE 染色,观察创面皮肤及组织的生长状况。

1.13 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本均数的 t 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ZnONPs 的理化性质表征

ZnONPs 形态多呈球形,部分为棒状(图 1A);ZnONPs 的粒径为(64.69 ± 20.47)nm(图 1B);ZnONPs 紫外吸收光谱如图 1C 所示,其最大吸收波长为 377.00 nm。

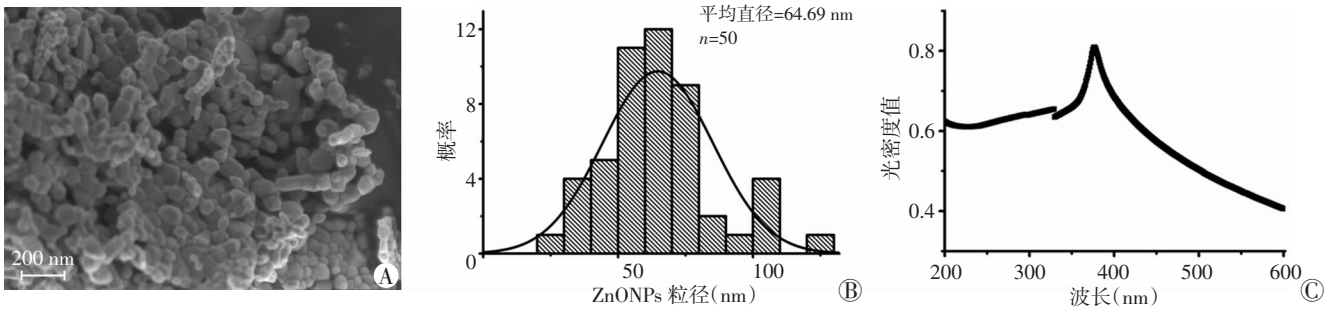
2.2 ZnO/PVA 纳米纤维形态

纳米纤维直径较小且较为均一,孔隙较多。SEM 观察未交联 PVA 纳米纤维的结果显示(图 2A ~ C):PVA 纳米纤维直径较小,纤维交界处轮廓明显(图 2B 箭头示),纤维直径为(227.18 ± 85.96)nm;SEM 观察交联 PVA 纳米纤维的结果显示(图 2D ~ F):纳米纤维

交界处发生明显融合(图 2E 箭头示),纳米纤维直径为(315.75 ± 146.29) nm,较未交联 PVA 纳米纤维的直径明显增加($P < 0.05$);SEM 观察交联 ZnO/PVA 纳米纤维的结果显示(图 2G ~ I):ZnO/PVA 纳米纤维直径为(324.22 ± 144.80) nm,与交联 PVA 纳米纤维的直径差异没有统计学意义。可见纳米纤维中载有 ZnONPs(图 2H 箭头示)。

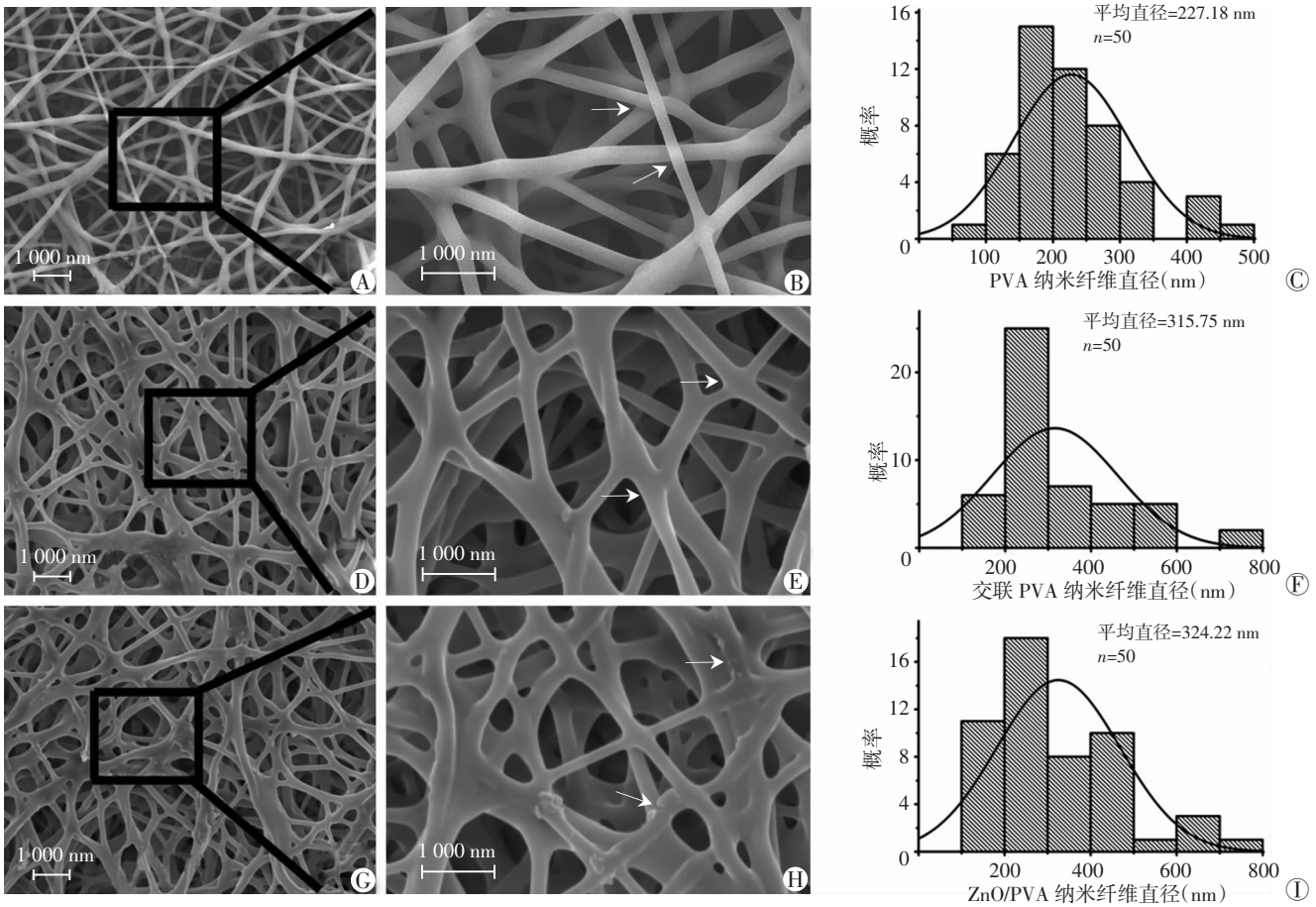
2.3 透射电镜观察 ZnO/PVA 纳米纤维中 ZnONPs 的分布

TEM 结果显示:对照组仅有柱状半透明纳米纤维,并无黑色纳米粒(图 3A);ZnO/PVA 纳米纤维中的 ZnONPs 同时分布于纳米纤维表面和内部(图 3B 箭头示);而交联 ZnO/PVA 纳米纤维中的 ZnONPs 主要分布在纳米纤维内部(图 3C 箭头示)。



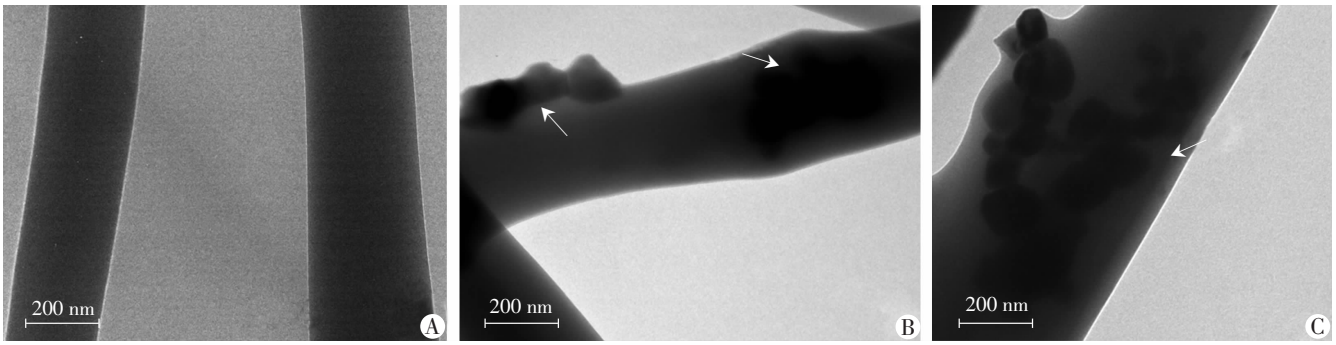
A:SEM 观察 ZnONPs 的形态;B:ZnONPs 的粒径分布;C:ZnONPs 的紫外光图谱

图 1 ZnONPs 的理化性质表征



A ~ C:PVA 纳米纤维;D ~ F:交联 PVA 纳米纤维;G ~ H:交联 ZnO/PVA 纳米纤维;A、D、G:×5 000;B、E、H:×20 000;C、F、I:Image J 随机统计 B、E、H 图中纳米纤维直径分布($n = 50$);B 图箭头示 PVA 纳米纤维交界处轮廓明显,未发生融合;E 图箭头示交联 PVA 纳米纤维交界处发生明显融合;H 图箭头示 PVA 纳米纤维表面可见少量 ZnONPs

图 2 SEM 观察纳米纤维的形态及纳米纤维的直径分布

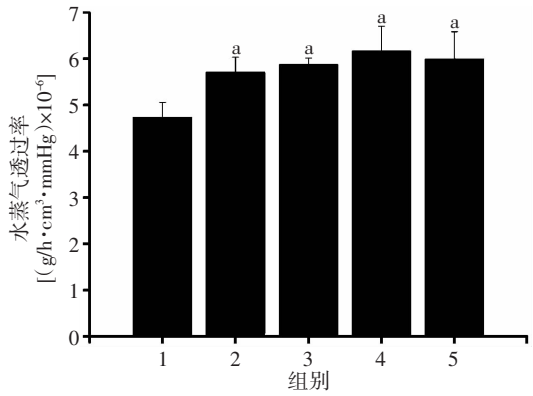


A:PVA 纳米纤维;B:ZnO/PVA 纳米纤维,箭头示 ZnONPs 分布在纳米纤维表面和内部;C:交联 ZnO/PVA 纳米纤维,箭头示 ZnONPs 主要分布在纳米纤维内部

图 3 TEM 观察 ZnONPs 在 ZnO/PVA 纳米纤维中的分布

2.4 ZnO/PVA 纳米纤维的透气性

PVA 纳米纤维、1% ZnO/PVA 纳米纤维、3% ZnO/PVA 纳米纤维和 5% ZnO/PVA 纳米纤维 4 组间的水蒸气透过率差异没有统计学意义。同无纺布对照组相比,PVA 纳米纤维、1% ZnO/PVA 纳米纤维、3% ZnO/PVA 纳米纤维和 5% ZnO/PVA 纳米纤维透气性显著增加($P<0.05$,图 4),表明 ZnO/PVA 纳米纤维具有较为理想的透气性能。

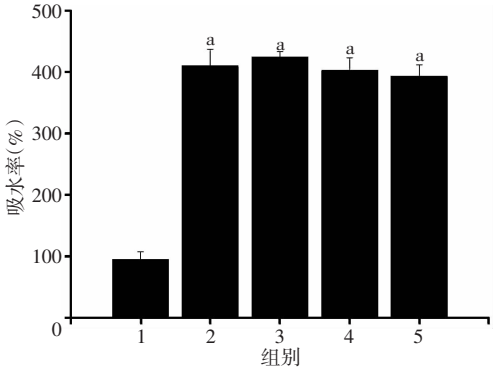


1:无纺布对照组;2:PVA 组;3:1% ZnO/PVA 组;4:3% ZnO/PVA 组;5:5% ZnO/PVA 组; a:$P<0.05$,与无纺布对照组比较

图 4 ASTME 96 干燥剂法测定 ZnO/PVA 纳米纤维的透气性($n=3$)

2.5 ZnO/PVA 纳米纤维的吸水率

PVA 纳米纤维、1% ZnO/PVA 纳米纤维、3% ZnO/PVA 纳米纤维和 5% ZnO/PVA 纳米纤维 4 组之间的吸水率差异无统计学意义;但同无纺布对照组相比,PVA 纳米纤维、1% ZnO/PVA 纳米纤维、3% ZnO/PVA 纳米纤维和 5% ZnO/PVA 纳米纤维组的吸水能力明显提高,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 5),表明 ZnO/PVA 纳米纤维具有优越的吸水性能。



1:对照组;2:PVA 组;3:1% ZnO/PVA 组;4:3% ZnO/PVA 组;5:5% ZnO/PVA 组; a:$P<0.05$,与对照组比较

图 5 ZnO/PVA 纳米纤维的吸水率测定($n=3$)

2.6 ZnO/PVA 纳米纤维的累积释放度

采用交联 ZnO/PVA 纳米纤维(1% ZnO/PVA)在 37 ℃、75 r/min 气浴振荡器中振摇 120 h 后测定的值 C_0(载药)为 1.98 g/L。

ZnO/PVA 纳米纤维在 24 h 内的释放行为较为明显,能释放出超过 70% 的 ZnONPs;24 h 之后释放行为逐渐变缓慢,在 72 h 内释放出约 83% 的 ZnONPs(图 6)。

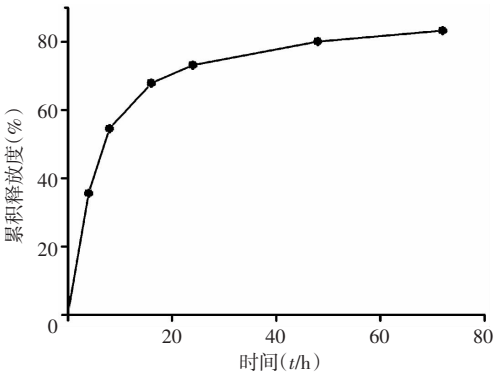
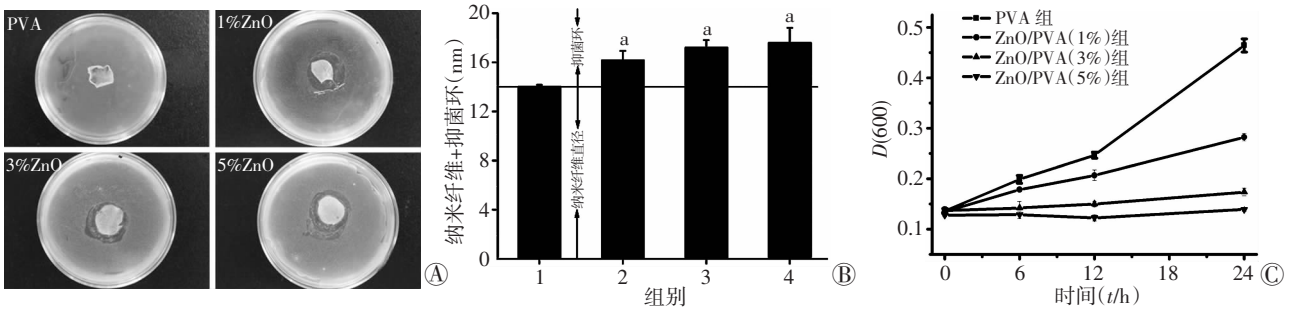


图 6 ZnO/PVA 纳米纤维中 ZnONPs 的释放($n=3$)



A:抑菌环结果(纳米纤维的原始直径为 14.00 mm);B:抑菌环大小统计　1:PVA 组;2:1% ZnO/PVA 组;3:3% ZnO/PVA 组;4:5% ZnO/PVA 组;a:$P<0.05$,与 PVA 组比较($n=3$);C:金葡菌在不同浓度 ZnONPs 条件下的生长曲线($n=3$)

图 7　不同浓度 ZnO/PVA 纳米纤维的抑菌实验结果

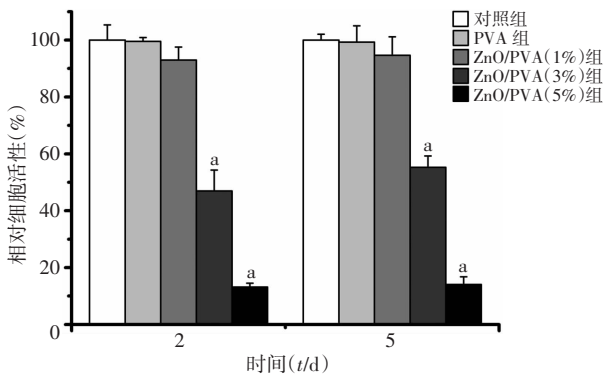
2.7　ZnO/PVA 纳米纤维的抑菌性能

载有 ZnONPs 的纳米纤维有明显的抑菌环,单独的 PVA 纳米纤维没有抑菌环(图 7A)。载有 ZnONPs 的纳米纤维的抑菌环较 PVA 纳米纤维有显著的增加($P<0.05$),而 1%、3% 和 5% 的 ZnO/PVA 纳米纤维组之间没有明显的差异(图 7B)。1% ZnO/PVA 纳米纤维对金黄色葡萄球菌的抑制作用优于 PVA 纳米纤维,3% ZnO/PVA 组、5% ZnO/PVA 组比 1% ZnO/PVA 组的抑菌作用强(光密度值越大,细菌繁殖越快,抑菌作用越弱)(图 7C)。可见 ZnO/PVA 纳米纤维对金葡菌有较强的抑制作用。

2.8　ZnO/PVA 纳米纤维细胞毒性

MTT 结果显示(图 8):PVA 纳米纤维、1% ZnO/PVA 纳米纤维与对照组相比,差异无统计学意义;3% ZnO/PVA 和 5% ZnO/PVA 纳米纤维组细胞生长状态明显受到抑制,与对照组相比差异具有统计学意义($P<0.05$)。

MTT 结果说明纳米纤维含有低浓度 ZnONPs 时对细胞基本无毒;当增加纳米粒用量时,细胞毒性增加。因此,低浓度的 ZnONPs 具有较好的生物相容性,故选取 1% ZnO/PVA 纳米纤维进行动物实验。

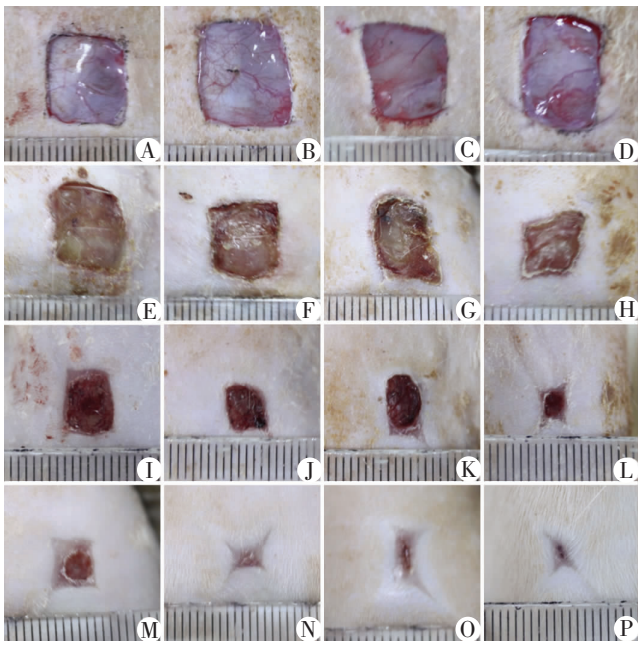


a:$P<0.05$,与对照组比较

图 8　MTT 检测 ZnO/PVA 纳米纤维对人皮肤成纤维细胞的细胞活性($n=3$)

2.9　ZnO/PVA 纳米纤维对创面的愈合作用

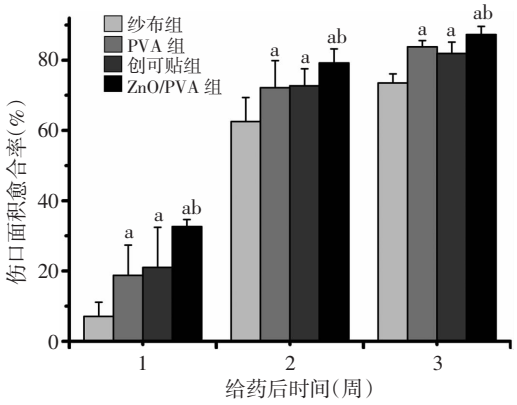
创面愈合结果显示(图 9):在分别给药后第 7、14 天和第 21 天,ZnO/PVA 纳米纤维组的创面收缩(愈合作用)最明显,创可贴组和 PVA 纳米纤维组创面收缩程度弱于 ZnO/PVA 纳米纤维组,以上 3 组创面愈合作用均明显优于纱布组。



A~D:第 0 天创面模型;E~H:第 7 天创面恢复情况;I~L:第 14 天创面恢复情况;M~P:第 21 天创面恢复情况;A、E、I、M:纱布组;B、F、J、N:PVA 纳米纤维组;C、G、K、O:创可贴组;D、H、L、P:ZnO/PVA 纳米纤维组

图 9　给药后不同时间点各组 SD 大鼠创面愈合情况

创面愈合率结果显示(图 10):在给药后第 7、14 天和第 21 天,ZnO/PVA 纳米纤维组的伤口面积愈合率显著优于纱布组、PVA 组和创可贴组($P<0.05$)。各组间的愈合率随着时间的推移而减小。



a:$P<0.05$,与纱布组比较;b:$P<0.05$,与创可贴组比较

图 10　纱布组、PVA 组、创可贴组和 ZnO/PVA 组的创面愈合率($n=5$)

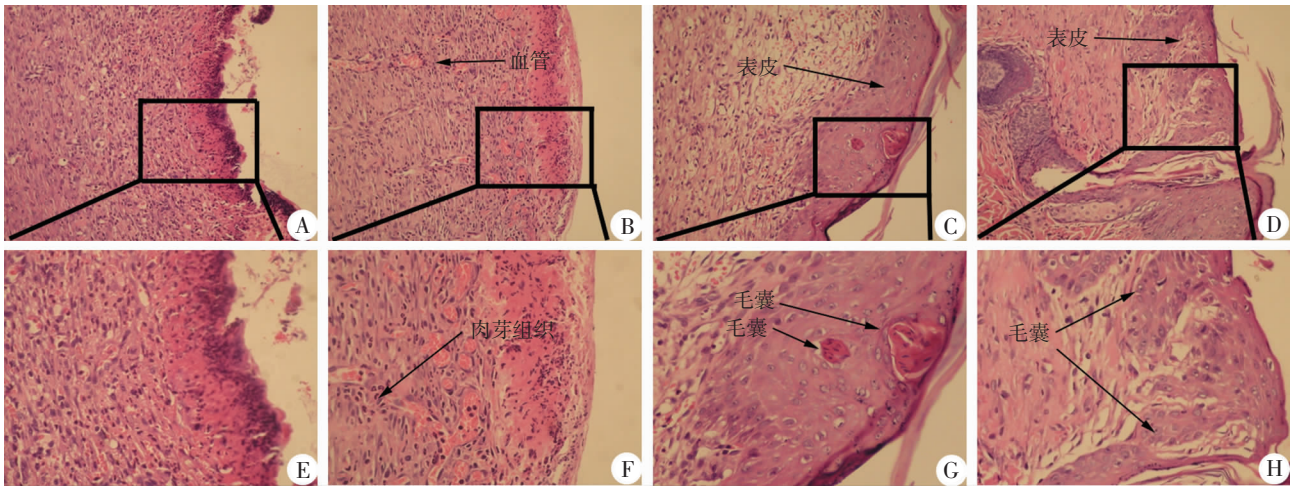
HE 染色结果显示(图 11):ZnO/PVA 纳米纤维组有大量的胶原纤维形成,生成了明显的毛囊结构和表皮;创可贴组胶原纤维数量较 ZnO/PVA 纳米纤维组明显减少,毛囊结构生成较弱,有表皮形成;PVA 纳米纤维组无毛囊结构和表皮生成,但是炎性细胞数量较纱布组明显减少,有较明显的肉芽组织和血管生成;而纱布组没有胶原纤维、肉芽组织、血管等生成,皮肤生成情况明显弱于其他组。

以上结果均表明 ZnO/PVA 纳米纤维能够促进创面伤口愈合,其促愈作用比创可贴和纱布更好。

3　讨论

传统的创伤敷料(例如纱布类敷料)是迄今为止应用最广的敷料,但是这类敷料具有容易滋生细菌、创面与纱布粘连、形成结痂和造成二次伤害等缺点[9]。理想的创伤敷料应具有透气性能好、吸收渗出液能力强、抑菌效果好和促进创伤修复等特点。静电纺丝技术是将聚合物的溶液或熔体,利用高压静电的方法进行喷射拉伸而获得纳米级别纤维的技术。聚乙烯醇具有细胞相容性良好、生物作用安全、可降解、亲水性能好、化学性能稳定和成膜性能好等多种优点[10-11],是制备静电纺丝纳米纤维的极佳材料。近年来,由于大量抗生素的滥用,导致多种细菌耐药性的出现。无机抗菌材料因其化学稳定性和安全性优良等特点成为研究的热点。氧化锌是一种化学性质稳定、价格低廉、资源丰富的活性氧化物抗菌材料,其被发现在较低的浓度下也能显示出较为优越的抗菌性能[12],而纳米级别的氧化锌具有更加优越的抗菌性能。有研究表明一定浓度的 ZnONPs 具有较强的抑菌能力且对正常细胞没有毒性,同时表明了纳米氧化锌/β-壳聚糖水凝胶能够促进创伤的愈合[1];Shalumon 等[13]对 ZnONPs 在创伤中的治疗作用进行了预期和展望。截至目前,通过静电纺丝技术制备包载 ZnONPs 的 PVA 纳米纤维,进而用于创伤治疗的研究还鲜有报道。本研究通过溶液-凝胶法制备 ZnONPs,再通过静电纺丝技术制备 ZnO/PVA 纳米纤维,从而将纳米粒和纳米纤维有效地接合起来,综合了 ZnONPs 抑菌作用较强、作用安全等特点和 PVA 纳米纤维生物相容性好、生物作用安全、透气性能好、亲水性强等优点,为创伤的治疗提供了有利的条件。

本研究结果显示 ZnONPs 多呈球形,部分为棒状,ZnONPs粒径为(64.69 ± 20.47) nm,纳米级别的ZnO



A ~ D: ×200;E ~ H: ×400;A、E:纱布组;B、F:PVA 纳米纤维组;C、G:创可贴组;D、H:ZnO/PVA 纳米纤维组

图 11　HE 染色观察创面愈合状况

粒子对细菌的抑制作用更强;纳米纤维直径较小且较为均一,PVA 纳米纤维在交联前后的直径分别为(227.18±85.96)nm 和(315.75±146.29)nm,差异有统计学意义($P<0.05$),表明纤维直径显著性增加;交联前后纳米纤维结构发生了明显的变化,交联效果明显,能够减少 PVA 的溶解,进而有利于 ZnO/PVA 纳米纤维透气性能和吸水性能的研究。透气性实验结果表明 ZnO/PVA 纳米纤维的透气性能优于无纺布,有助于创面与外界环境进行气体交换进而促进创伤愈合。吸水率实验结果显示 ZnO/PVA 纳米纤维的吸水率明显优于无纺布对照组,有助于吸收伤口渗出液,进而保持创面干燥但又不丢失水分。金黄色葡萄球菌作为创面感染最常见细菌之一,抑菌实验结果表明 ZnO/PVA 纳米纤维对其抑制作用较为明显,进而保护创面不受感染。MTT 实验结果显示:1% ZnO/PVA 纳米纤维比其他浓度作用更安全,在此条件下人皮肤成纤维细胞的存活率达到 90% 以上,与对照组之间没有显著性差异($P>0.05$)。因此,本研究采用 1% ZnO/PVA 纳米纤维进行创伤愈合试验研究。

创伤愈合实验显示 ZnO/PVA 纳米纤维组创面收缩(愈合作用)最明显,明显优于创可贴组、PVA 组和纱布组,表明 ZnO/PVA 纳米纤维能够加速创伤的修复;创面愈合率结果显示 ZnO/PVA 纳米纤维组的伤口愈合率优于创可贴组、PVA 组和纱布组,与以上结果相一致;HE 染色结果显示 ZnO/PVA 纳米纤维组有明显的胶原纤维、毛囊结构和表皮形成,创可贴组和单独的 PVA 纳米纤维组的胶原纤维、毛囊结构和表皮生成情况明显弱于 ZnO/PVA 纳米纤维组,而纱布组的皮肤生成情况明显弱于其他组。

上述结果表明 ZnO/PVA 纳米纤维能够促进创伤的愈合,是一种比较理想的新型创伤敷料。相较于传统的创伤敷料,本研究制备的 ZnO/PVA 纳米纤维透气性能好,吸水能力强,对细菌抑制作用较强,能够促进创伤的愈合,在创面敷料领域具有较好的应用潜力。

参考文献:

[1] P T SK, Lakshmanan V K, Raj M, *et al*. Evaluation of Wound Healing Potential of β-Chitin Hydrogel/Nano Zinc Oxide Composite Bandage[J]. Pharm Res, 2013, 30(2): 523 - 537. DOI: 10.1007/s 11095-012-0898-y

[2] Li C, Fu R, Yu C, *et al*. Silver nanoparticle/chitosan oligosaccharide/poly(vinyl alcohol) nanofibers as wound dressings: a preclinical study[J]. Int J Nanomedicine, 2013, 8: 4131 - 4145. DOI: 10.2147/IJN.S51679

[3] Rieger K A, Birch N P, Schiffman J D, *et al*. Designing electrospun nanofiber mats to promote wound healing a review[J]. J Mater Chem B, 2013, 1(36): 4531 - 4541. DOI: 10.1039/C3TB20795A

[4] Krogstad E A, Woodrow K A. Manufacturing scale-up of electrospun poly(vinyl alcohol) fibers containing tenofovir for vaginal drug delivery[J]. Int J Pharm, 2014, 475(1/2): 282 - 291. DOI: 10.1016/j. ijpharm.2014.08.039

[5] 况慧娟, 杨林, 许恒毅, 等. 纳米氧化锌抗菌性能及机制的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(1): 153 - 157. DOI: 10.3867/j. issn. 1000-3002.2015.01.024

[6] Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, *et al*. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO2 to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus[J]. Chemosphere, 2008, 71(7): 1308 - 1316. DOI: 10.1016/j.chemosphere. 2007.11.047

[7] Jafari A, Ghane M, Arastoo S. Synergistic antibacterial effects of nano zinc oxide combined with silver nanocrystales[J]. African Journal of Microbiology Research, 2011, 5(30): 5465 - 5473. DOI: 10.5897/AJMR11.392

[8] Vargas E A, do Vale Baracho N C, de Brito J, *et al*. Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications[J]. Acta Biomater, 2010, 6(3): 1069 - 1078. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.09.018

[9] 杜天乐, 刘东林, 景春晖, 等. 创伤敷料对促进创面愈合的研究进展[J]. 医学综述, 2015, 21(6): 969 - 971. DOI: 10.3969/j. issn.1006-2084.2015.06. 004

[10] 李沉纹, 管海燕, 李卓恒, 等. 静电纺丝技术制备载药聚乙烯醇-海藻酸钠纳米纤维[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(12): 980 - 985. DOI: 10.11669/cpj. 2013.12.010

[11] 蔡晓青, 赵青云, 郭园园, 等. 药物/聚合物微纳纤维的制备与释药性[J]. 山东大学学报:医学版, 2015, 53(12): 33 - 37. DOI: 10.6040/j. issn. 1671-7554.0.2015.845

[12] 胡占江, 赵忠, 王雪梅. 纳米氧化锌抗菌性能及机制[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2012, 16(3): 527 - 530. DOI: 10.3969/j. issn.1673-8225.2012.03.033

[13] Shalumon K T, Anulekha K H, Nair S V, *et al*. Sodium alginate/poly(vinyl alcohol)/nano ZnO composite nanofibers for antibacterial wound dressings[J]. Int J Biol Macromol. 2011, 49(3): 247 - 254. DOI: 10.1016/j. ijbiomac.2011.04.005

(**收稿**:2016-06-15;**修回**:2016-07-17)

(编辑 张 维)