

## 淫羊藿苷纳米纤维膜自组装囊泡的制备及表征

江永南<sup>1</sup>, 莫红缨<sup>2</sup> (1.广东食品药品职业学院, 广州 510520; 2.广州医学院第一附属医院广州呼吸疾病国家重点实验室, 广州 510120)

**摘要:** 目的 采用静电纺丝制备淫羊藿苷纳米纤维膜, 并通过自组装技术形成纳米囊泡, 改善淫羊藿苷在体内的相容性及吸收性能。方法 通过溶解度实验筛选合适溶剂, 以静电纺丝技术制备淫羊藿苷纳米纤维膜, 采用扫描电镜对纤维膜表面形态进行观察, 采用 X 射线晶体衍射(XRD)和差示扫描量热分析(DSC)检测纤维膜中药物的存在状态, 通过红外光谱分析药物与纤维材料之间的相互作用。并通过透射电镜观察纳米纤维膜自组装纳米囊泡的性能。结果 甲醇与二甲基乙酰胺混合溶剂的溶解性及纤维成型性较好; 载药纤维直径分布均匀(400~600 nm)、表面光滑无药物颗粒, 药物与聚合物之间通过氢键作用, 具有良好的相容性, 水中溶解试验发现纳米纤维膜能自组装成纳米囊泡。结论 药物以无定形态高度分散于纳米纤维中, 电纺制备工艺简单易行; 且淫羊藿苷纳米纤维膜能自组装成纳米囊泡。

**关键词:** 淫羊藿苷纳米纤维膜; 静电纺丝; 自组装囊泡

中图分类号: R943.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)06-0509-04

### Preparation and Characterization of Self-assembly Vesicle of Icarin Nanofiber

JIANG Yongnan<sup>1</sup>, MO Hongying<sup>2</sup> (1.Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China; 2.State Key Laboratory of Respiratory Disease, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510120, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To improve the compatibility and absorption properties of icariin *in vivo* by preparing electrospun icariin nanofiber and forming self-assembly nano-vesicles. **METHODS** Solubility test in solvent was performed to screen suitable solvent system. Icarin nanofibers was prepared by electrospinning. SEM and TEM were used to observe fiber membrane surface and self-assembly vehicle morphology respectively. XRD, DSC and IR were applied to characterize the drug-loaded nanofiber. **RESULTS** Methanol and dimethylacetamide were selected as the solvent mixture for providing good solubility and formation of drug-loaded fiber. The electron scan microscope showed that diameter of fiber was (400–600 nm) and the fiber surface was smooth without drug absorption. The polymers were well compatible with drug. Hydrogen bonds played a key interaction between drug and polymers. Nano-vehicle was self-assembled by dispersing the drug-loaded nanofiber into water. **CONCLUSION** Preparation of icariin nanofiber membrane by electrospinning was simple and icariin was highly dispersed in nanofiber in amorphous form. Nanofibers can be self-assembled in water to form nano-vehicles.

**KEY WORDS:** icariin nanofiber; electrospinning; self-assembly vesicle

近年来, 随着纳米科技热潮的叠起, 高压静电纺丝技术焕发新生, 跨学科应用迅速崛起, 致使相关文献呈指数级上升<sup>[1-3]</sup>。该技术通过外加高压电场力克服喷头毛细管尖端液滴的液体表面张力和黏弹力而形成射流, 在静电斥力、库仑力和表面张力的共同作用下, 雾化后的液体射流被高频率地弯曲、拉延、分裂, 在几十毫秒内被牵伸  $1 \times 10^7$  倍, 经溶剂挥发或熔融物冷却, 在接收端得到纳米级纤维<sup>[4]</sup>。纳米级纤维的性能可以通过载体材料的选择和工艺的变化满足不同的应用需求, 再加工成所需的缓控释给药系统<sup>[5]</sup>。

淫羊藿为传统补肾壮阳药, 主成分为黄酮、

淫羊藿苷和多糖。现代研究发现其具有全方位的抗骨质疏松作用<sup>[6]</sup>、免疫调节作用, 心脑血管扩张作用, 但淫羊藿苷溶解度低, 口服生物利用度不高, 笔者曾通过磷脂复合物制备, 自乳化技术运用, 提高淫羊藿苷的生物利用度<sup>[7-8]</sup>。聚乙烯基吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)是一种水溶性的常规药用聚合物辅料, 其分子同时含有亲水基团和亲油基团, 可与多种物质, 尤其是含羟基、羧基、氨基及其他含活性氢的化合物或单质形成络合物, 在医药领域广泛用作药物的增溶剂、分散剂与结晶抑制剂等<sup>[9-11]</sup>。本研究以淫羊藿苷为模型药物, 以卵磷脂和 PVP 为载体, 综合运用静电

基金项目: 广东食品药品职业学院自然科学研究项目(2008Z010)

作者简介: 江永南, 男, 博士, 副教授 Tel: (020)28854915

E-mail: jysnake@163.com

纺丝技术、纳米技术和自组装技术,制备均匀性良好的淫羊藿苷自组装纳米囊泡,从而提高淫羊藿苷的体内相容性,促进体内吸收,为有效调控药物在体内的溶出和吸收提供新的思路和方法。

## 1 材料

电纺装置:采用削平的5号不锈钢针头(内径0.5 mm)作为喷射毛细管,连接ZGF2000型高压发生器(上海苏特电器有限公司),纺丝液流量由KDS100型微量注射泵(美国Cole-Parmer公司)控制,纳米纤维采用铝箔平板接收;S-4800型场发射扫描电镜(日本日立);JEM 2100(H R)透射电子显微镜(日本电子公司);XP-700型偏光显微镜(上海长方光学仪器有限公司);Power-Shot A640型数码相机(日本佳能);D/Max-BRX-射线晶体衍射仪(RigaKu,日本);傅立叶红外光谱仪(Nicolet NEXUS2670, USA);MDSC 2910差示扫描量热仪(美国TA Instruments Co.)。

甲醇(分析纯,国药集团上海化学试剂公司),二甲基乙酰胺(DMAc,分析纯,国药集团上海化学试剂公司);PVP K60(重均分子量为 $3.6 \times 10^5$  Da,德国BASF公司);水为超纯水;卵磷脂(批号:F20100213,国药集团上海化学试剂公司);淫羊藿苷(批号:20100323,陕西森弗高科实业有限公司,含量:99%)。

## 2 方法与结果

### 2.1 载药纳米纤维膜的制备

纺丝工艺条件:①纺丝液配制:将1 g的淫羊藿苷溶解于100 mL甲醇-二甲基乙酰胺(30:70)混合液中,待完全溶解后,溶液清亮;然后将卵磷脂2 g以及8 g PVP K60溶于上述溶解液中,搅拌2 h后成透明液体,超声处理15 min进行脱气;②选定工艺参数:流速为 $2.0 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1}$ ,接受板离喷嘴口距离为15 cm,电压为12 kV。环境温度为 $(12 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,环境湿度为 $(67 \pm 4)\%$ 。

### 2.2 溶剂系统选择及纤维形态观察

对DMAc与甲醇的几种配比进行电纺与偏光纤维镜观察,结果发现在甲醇-DMAc(30:70)条件下,溶剂用量100 mL时能有效溶解2 g以上淫羊藿苷,同时纺丝液透明清亮、成丝性能好。因此在此条件下,制备载药纳米纤维膜,并采用扫描电镜观察电纺纤维膜表面形态,观察前进行喷金处理,电压为15 kV。纤维结构均匀、表面光滑无药物颗粒、纤维直径集中在400~600 nm之间,结

果见图1。

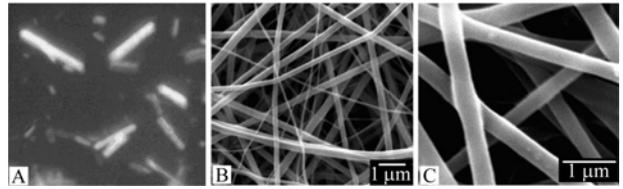


图1 淫羊藿苷晶体偏振光显微图及其电纺纳米纤维扫描电镜图

A-淫羊藿苷条状晶体偏振光显微图; B-电纺纳米纤维扫描电镜图; C-电纺纳米纤维扫描电镜图

Fig 1 Observation of the morphologies of nanofibers and icariin particles

A-icariin particles; B-SEM image of nanofibers; C-SEM image of nanofibers

淫羊藿苷原料药晶体呈针状或条柱状,并由于晶面的反射折射,使得颗粒呈多种彩色式样,结果见图1。PVP是一种水溶性无定型态聚合物<sup>[12]</sup>,其粉末则呈现半透明的、无规则的小颗粒。共用电纺成纳米纤维之后,没有固相分离现象、没有药物结晶颗粒出现,反映药物与成纤聚合物之间良好的相容性。其具体原因可能是在电纺过程由于高压电场力的作用,溶剂迅速挥发,PVP快速成纤,抑制了药物在纤维成纤过程中的晶核的形成、以及微晶聚结成颗粒的现象,使得药物在纳米纤维高度均匀分散。

### 2.3 纤维膜表征与药物状态分析

2.3.1 X-射线晶体衍射分析 以 $\text{CuK}\alpha$ 射线为光源,在 $(5\sim 60)^\circ$ 角度范围内和40 mV、300 mA条件下采用X-射线晶体衍射仪进行XRD分析。淫羊藿苷的 $2\theta$ 分别为 $6.84^\circ$ 、 $8.16^\circ$ 、 $12.88^\circ$ 、 $16.28^\circ$ 和 $21.6^\circ$ 等处出现特征衍射峰,电纺纤维中药物晶体衍射峰完全消失,并且PVP的两个无定型态特征“驼峰”也消失,而卵磷脂的 $2\theta(7.15^\circ)$ 的特征峰也消失,说明纳米电纺纤维中淫羊藿苷、卵磷脂与PVP发生复合作用,失去了原有的晶体结构,处于一种高度分散的无定形态。结果见图2。

2.3.2 差示扫描量热分析 在升温速率 $10 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$ 、温度 $20\sim 250^\circ\text{C}$ 、氮气流速为 $40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下,采用差示扫描量热仪进行DSC分析。淫羊藿苷有单个吸热峰,对应熔点为 $249.81^\circ\text{C}$ 。PVP没有固定的熔点,但具有高吸湿性,因此在 $80\sim 120^\circ\text{C}$ 之间有一个脱水吸热区。卵磷脂没有固定的熔点,复合载药纳米纤维膜没有固定熔点,在 $80^\circ\text{C}$ 附近有一个小吸热区,在 $249.81^\circ\text{C}$ 处峰完全消失,说明在载药纳米纤维中,淫羊藿苷与PVP和卵磷脂

形成了一种低共熔物，晶体结构消失，与 XRD 结果一致。结果见图 3。

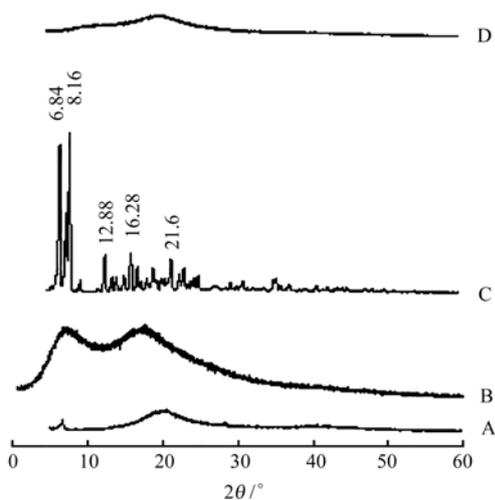


图 2 淫羊藿苷纳米纤维各组分 X-衍射图谱  
A-卵磷脂; B-PVP; C-淫羊藿苷; D-淫羊藿苷电纺纤维膜  
Fig 2 X-ray diffraction patterns of a nanofiber membrane and its compositions  
A-*lecithin*; B-PVP; C-*icariin*; D-nanofiber

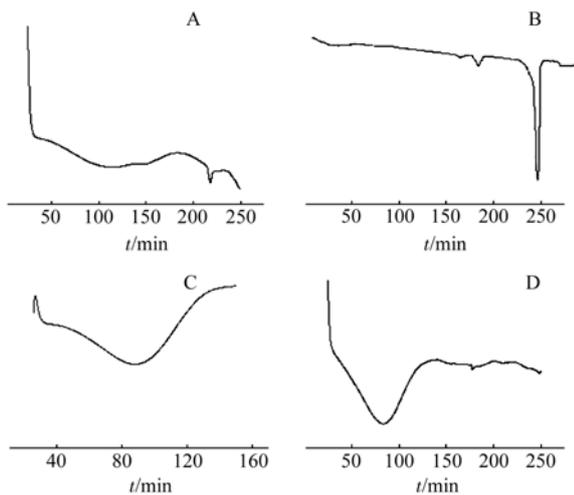


图 3 纳米纤维膜及其组分的 DSC 曲线图  
A-卵磷脂; B-淫羊藿苷; C-PVP; D-纳米纤维膜  
Fig 3 DSC of nanofiber membrane and its compositions  
A-*lecithin*; B-*icariin*; C-PVP; D-nanofiber

**2.3.3 傅立叶红外光谱分析** 将 2 mg 样品(淫羊藿苷、卵磷脂、PVP 和纳米纤维膜)分别研磨分散于 200 mg KBr 中，压片后用傅立叶红外光谱仪在 500~4 000  $\text{cm}^{-1}$  范围内扫描。淫羊藿苷的苯环伸缩振动峰 1 610  $\text{cm}^{-1}$  在纳米纤维膜图谱上消失，在其指纹区，淫羊藿苷众多的尖锐吸收峰都变弱或完全消失；卵磷脂在 2 920, 2 850  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰减弱；另外，由于 C=O 的伸缩振动，淫羊藿苷、卵磷脂和 PVP 和分别在 1 660, 1 740, 1 670  $\text{cm}^{-1}$

处有吸收峰，而在纳米纤维膜的图谱上融合成一个峰并向低波方向移动到 1 660  $\text{cm}^{-1}$  这些现象说明淫羊藿苷分子与 PVP 及卵磷脂之间通过氢键发生相互作用，具有较好的相容性。结果见图 4。

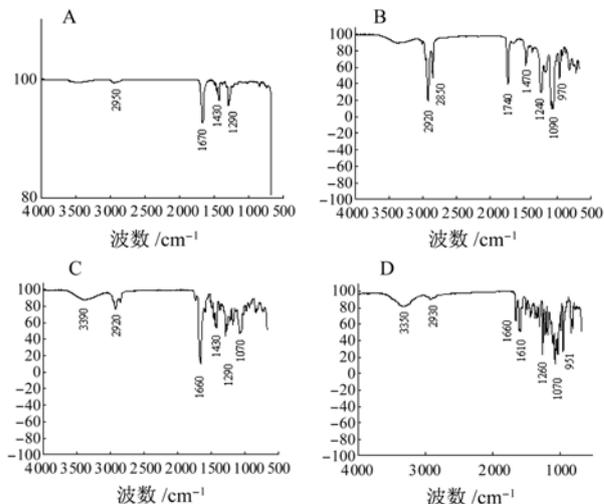


图 4 不同组分红外图谱  
A-PVP; B-卵磷脂; C-淫羊藿苷电纺纤维膜; D-淫羊藿苷  
Fig 4 FTIR spectra of a nanofiber membrane  
A-PVP; B-*lecithin*; C-nanofiber; D-*icariin*

#### 2.4 自组装囊泡的表征

取淫羊藿苷纳米纤维膜 0.1 g，置 20 mL 的高纯水中，轻轻旋动容器，形成肉眼可见的透明均一液体，采用负染色法透射电子显微镜对囊泡进行了观测。将囊泡体系与 0.5%醋酸双氧铀乙醇溶液按体积比 2 : 1 混合，得到的溶液滴于碳膜的铜网上，多余溶液立即用滤纸吸掉，铜网自然干燥，30 min 后进行电子显微镜观测。结果如图 5 所示，卵磷脂分子形成了囊泡，囊泡粒径在 50~100 nm。

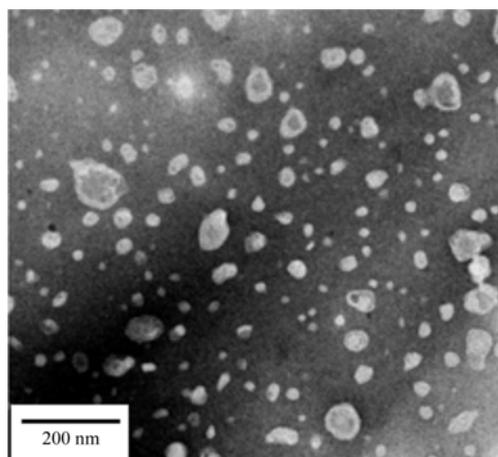


图 5 淫羊藿苷纳米纤维膜自组装囊泡透射电镜图  
Fig 5 TEM of self-assembled *icariin* nano-vesicles

### 3 讨论

电纺溶解液的筛选：理想的电纺液应该具备三大优势：①对药物具有良好的溶解性；②沸点较低，溶液在电纺时消除，残留少；③对载体有良好溶解性和成型性。预试时发现：PVP 在纯 DMAc、二甲基甲酰胺 DMF、二甲亚砜 DMSO、水中由于溶剂沸点高、难挥发，不能形成纤维，而在甲醇、乙醇、氯仿中达到一定浓度后，都能电纺成结构均匀、表面光滑的纤维。淫羊藿苷在甲醇、乙醇、氯仿中溶解性，顺序为甲醇>乙醇，氯仿中难溶，在 DMSO、DMAc、DMF 中溶解，溶解度顺序为 DMSO>DMAc>DMF。综合考虑选用甲醇与 DMAc 混合溶剂进行纺丝。研究结果发现：电纺溶解液的配比在甲醇：DMAc(30：70)较为理想。

电纺纤维性能：采用甲醇与 DMAc 混合溶剂配制淫羊藿苷、卵磷脂和 PVP 的共溶纺丝液，通过电纺工艺能制备出速溶纳米纤维药膜，淫羊藿苷富含羟基及氧原子等，可能通过氢键作用，以无定形态均匀分散于 PVP 和卵磷脂纳米纤维中，并能在水溶液中自组装成纳米囊泡，对口服制剂设计和开发提供有益的参考策略与方法。

制备工艺：应用电纺工艺制备水难溶性药物的纳米纤维状固体分散体工艺简单可行、实用有效。在纳米纤维成形的过程中，液体射流从雾化后到拉延分裂成丝的过程在几十毫秒内完成，此过程中溶剂迅速挥发。由于药物分子与聚合物之间能通过氢键发生络合作用<sup>[12]</sup>，因此在短暂的成丝过程中能尽量延续药物在溶液中的状态，抑制药物分子通过自身氢键形成晶核并成长成晶体。另外，该工艺干燥快，一般在几毫秒到几十毫秒内即可完成；单步喷射的工艺过程简单、操控方便；选择材料范围广泛、可控性强，并可通过喷头设计制备具有微观结构特征的纳米纤维。

纳米纤维状组合材料为 PVP 和卵磷脂，二元组合优化纳米纤维的性能，其中 PVP 具有以下特征<sup>[13]</sup>：表面积巨大；孔隙率高；药物在纤维基质中高度分散并以无定形态存在；PVP K60 具有亲

水效应和立体空间阻剂作用。同时卵磷脂是优良的乳化剂，这些因素一方面有利于水分的润湿，另一方面通过囊泡形成改善药物的生物相容性和释放性能。

### REFERENCES

- [1] YU D G, SHEN X X, ZHU L M, et al. Iatric fiber and its application in novel drug delivery system [J]. *China Synthetic Fiber Industry(合成纤维工业)*, 2008, 31(3): 57-61.
- [2] HUANG Z M, ZHANG Y Z, KOTAKI M. A review on polymer nanofibers by electrospinning applications in nanocomposites [J]. *Compos Sci Technol*, 2003, 63(15): 2223-2253.
- [3] LI D, XIA Y N. Electrospinning of nanofibers: Reinventing the Wheel [J]. *Adv Mater*, 2004, 16(4): 1151-1170.
- [4] ZHANG Y Z, HUANG Z M, XU X. Preparation of core-shell structured PCL- $\gamma$ -Gelatin bi-component nanofibers by coaxial electrospinning [J]. *Chem Mater*, 2004, 16(18): 3406-3409.
- [5] MCKEE M G, LAYMAN J M, CASHION M P, et al. Phospholipid nonwoven electrospun membranes [J]. *Science*, 2006, 311(5759): 353-355.
- [6] JIANG Y N, MO H Y, CHEN J M. Effects of Epimedium total flavonoids phytosomes on preventing and treating bone-loss of ovariectomized rats [J]. *Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2002, 27(3): 221-224.
- [7] JIANG Y N, MO H Y, CHEN J M. Study on pharmacokinetic of herba epimedii total flavonoids and their phytosomes in rats [J]. *Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志)*, 2002, 22(10): 582-584.
- [8] JIANG Y N, MO H Y. Preparation of self-emulsifying soft capsule and its pharmacokinetic in rats for epimedium flavonoids [J]. *J Chin Med Mater(中药材)*, 2010, 33(5): 767-771.
- [9] WANG X, ZHANG W G, LI X Q, et al. Preparation and in vitro dissolution behaviors of Yiganqing-HPMC K4M/PVP K30 matrix tablet [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2012, 29(1): 50-55.
- [10] ESNAASHARI S, JAVADZADEH Y, BATCHELOR H K, et al. The use of microviscometry to study polymer dissolution from solid dispersion drug delivery systems [J]. *Int J Pharm*, 2005, 292(1/2): 227-230.
- [11] RAWLINSON C F, WILLIAMS A C, TIMMINS P, et al. Polymer-mediated disruption of drug crystallinity [J]. *Int J Pharm*, 2007, 336(1): 42-48.
- [12] HOU H Y. Summary of PVP polymer applied in hair cosmetics [J]. *Guangzhou Chem Ind Technol(广州化工)*, 2010, 38(2): 38-41.
- [13] ZHEN H P, NIE J, SUN J F, et al. Electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) blend ultrafine fibers and their ultraviolet photocrosslinking [J]. *Acta Polym Sin(高分子学报)*, 2007, (3): 230-234.

收稿日期：2011-09-28