

·研究简报·

速溶电纺载药 PVP 纳米纤维膜制备与表征^{*}

余灯广¹ 申夏夏¹ 张晓飞¹ Branford-White Chris² 朱利民^{1**}

(¹ 东华大学化学化工与生物工程学院 上海 201620) (² 伦敦都市大学卫生健康与政策研究所 伦敦 N7 8DB, UK)

摘 要 采用电纺工艺制备载豆腐果甘聚乙烯基吡咯烷酮纳米纤维膜. 通过偏光显微镜确定电纺条件, 利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基材之间的相互作用. 结果表明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, XRD 和 DSC 结果表明药物以无定形态高度分散于纳米纤维中, 纤维膜中药物以“聚合物控释”机制在 13.7 s 左右完全溶解.

关键词 电纺, 载药纳米纤维, 聚乙烯基吡咯烷酮, 速溶, 难溶药物

应用高分子材料制备载生物活性成分功能膜是目前聚合物科学与生物医药工程交叉研究的热点之一. 尤其是几年前由于提神鼻贴和口气清新膜剂的流行, 使得药膜型给药系统(drug delivery systems, DDS)成为众多研究机构的开发重点.

制备药膜的传统工艺是通过有机溶剂将药物与聚合物辅料一起溶解, 脱气处理后, 采用烘干、真空干燥或冷冻等制备出膜片的铸膜法^[1-3]. 近年来, 由于纳米科技的热潮和高压静电纺丝技术制备纳米材料的简易有效性, 使得应用电纺工艺制备无纺纳米纤维药膜引起了研究人员的极大兴趣^[4-8], 自 Kenawy 等^[3]在 2002 年首次报道盐酸四环素——聚(乙烯-co-醋酸乙烯酯)纳米纤维膜的电纺制备方法以来, 相关研究文献急剧增加^[9,10]. 在各种控释纳米纤维药膜中, 应用水溶性聚合物制备难溶药物的速溶纳米纤维膜将更能发挥纳米纤维膜因三维立体连续网状结构而具有的表面面积巨大、孔隙率高等特点^[11,12].

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^[13-15].

本文以中药活性成分豆腐果甘^[16]为难溶药物模型, PVP 为成纤维基材, 采用电纺工艺制备速溶纳米纤维药膜并进行表征.

1 原料与试剂

豆腐果甘原料药(云南玉溪万方天然药物有限公司, 含量 98.4%, 批号 070702); 聚乙烯吡咯烷酮(PVP K30, 重均分子量 M_w 为 5.8×10^5 , 德国 BASF 公司); 二甲基乙酰胺(DMAc, 国药集团上海化学试剂公司); 甲醇(国药集团上海化学试剂公司); 其余化学试剂均为分析纯, 水为高纯水.

2 载药纳米纤维膜的制备

电纺装置, 采用削平的针头(5 号不锈钢注射针头, 内径 0.5 mm)作为喷射细流的毛细管, 连接高压发生器(ZGF2000 型, 上海苏特电器有限公司), 纺丝液流量由微量注射泵(美国 Cole-Parmer[®] 公司)控制, 采用铝箔平板接受纤维.

电纺条件选择, 在静电纺丝过程中, 将载玻片固定于铝箔纤维接受平板上, 按选定条件纺丝 10 min 后, 取下载玻片, 盖上盖玻片, 固定于偏光显微镜下(XP-700, 上海长方光学仪器有限公司), 将起偏镜与检偏镜正交相错, 在一定物镜下, 移动偏光显微镜的移动尺或旋转载物台, 通过正交偏光观察载药纤维的形态, 并通过 Power-Shot A640 数码相机(Canon, Japan)拍摄记录. 同样可采用偏光纤维镜观察豆腐果甘原料药、PVP 粉末的形态.

选定纺丝工艺条件, (1) 纺丝液配制是将 5.0 g 豆腐果甘常温下溶解于盛有 100 mL 甲醇: DMAc (40:60, V: V) 中, 然后加入 30 g PVP 细粉, 搅拌 2 h 后成透明液体, 超声处理 15 min 进行脱气; (2) 选定工艺参数为流速为 2.0 mL/h, 接受板离喷丝

^{*} 2009-04-21 收稿, 2009-05-25 修稿; London Metropolitan University-东华大学中英药用纺织品联合实验室、上海市科委基金(基金号 08JC1400600)和中国博士后基金(基金号 20080440565)资助项目; ^{**} 通讯联系人, E-mail: zljzhu@dhru.edu.cn

口距离为 15 cm,电压 12 kV.其他条件,环境温度为 $(12 \pm 1)^\circ\text{C}$,环境湿度为 $(67 \pm 4)\%$.

3 成纤条件与纤维形态观察

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,电纺 10 min 后,偏光纤维镜下观察到的是微/纳米球,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.豆腐果苷在甲醇、乙醇、氯仿难溶,在 DMSO、DMAc、DMF 中溶解,溶解度顺序为 $\text{DMSO} > \text{DMAc} > \text{DMF}$.综合考虑选用 DMAc 与甲醇混合溶剂进行纺丝.

对 DMAc 与甲醇的几种比例进行电纺与偏光纤维镜观察,发现在 DMAc: 甲醇 ($V:V$) = 40:60 条件下、载药量能满足要求,同时纺丝液透明清亮、成丝性能好,偏光显微观察结果如图 1(c) 所示.因此在此条件下,连续电纺 5 h,制备载药纳米

纤维膜,并采用扫描电镜 (SEM, JSM-5600LV, 日本) 观察载药纤维膜表面形态,观察前进行喷金处理,电压 15 kV.结果如图 1(d) 所示,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.

如图 1(a) 所示,豆腐果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. PVP 是一种水溶性无定型态聚合物^[17],其粉末则呈现半透明的、无规则的小颗粒 (图 1b). 共溶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.

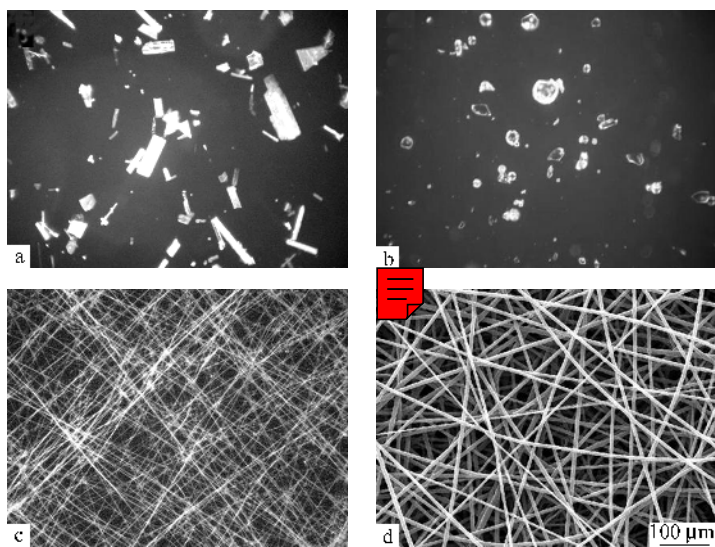


Fig. 1 Observations of the morphologies of nanofibers and particles
a ~ c): Photos from polarization microscopy (magnifications, (a) and (b) $25\times$, (c) $40\times$);
a) Helicid particles; b) PVP particles; c) Nanofibers; d) SEM image of nanofibers

4 纤维膜表征与药物状态分析

以 $\text{CuK}\alpha$ 射线为光源,在 $5^\circ \sim 60^\circ$ 角度范围内和 40 mV、300 mA 条件下采用 D/Max-BRX-射线晶体衍射仪进行 XRD 分析 (RigaKu, 日本). 结果如图 2 谱线 (c) 所示,豆腐果苷在 $2\theta = 15.899^\circ$ 、 29.159° 和 34.065° 等处出现特征衍射峰,载药纤维中药物晶体衍射峰完全消失 (图 2a),并且 PVP 的两个无定型态特征“驼峰”也消失,说明纳米载药纤维中豆腐果苷与 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.

在升温速率 10 K/min 、温度 $20 \sim 250^\circ\text{C}$ 、氮气流速为 40 mL/min 条件下,采用 MDSC 2910 差示扫描量热仪 (TA Instruments Co., 美国) 进行 DSC 分析. 结果如图 3 曲线 (a) 所示,豆腐果苷有单个吸热峰,对应熔点为 202.1°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 (图 3 曲线 b)^[18]. 复合载药纳米纤维膜没有固定熔点,在 160°C 附近有一个小吸热区 (图 3 曲线 c),在 202.1°C 处峰完全消失,说明在载药纳米纤维中,豆腐果苷与 PVP 形成了一种低

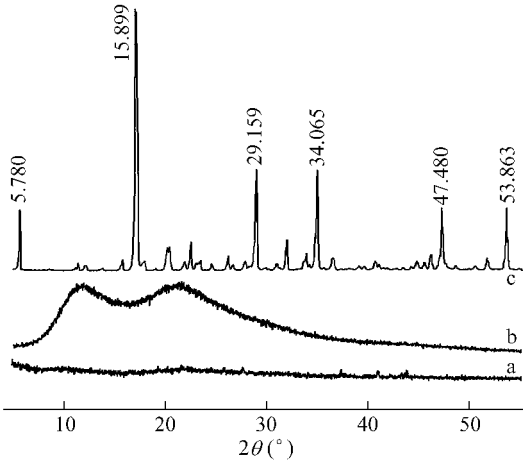


Fig. 2 X-ray diffraction patterns of (a) nanofiber membrane, (b) PVP and (c) helcid

共熔物,晶体结构消失,与 XRD 结果一致.

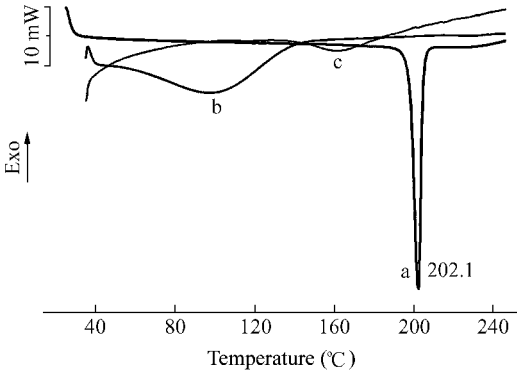


Fig. 3 DSC curves of (a) helcid, (b) PVP and (c) nanofiber membrane

将 2 mg 样品 (Helcid、PVP 和纳米纤维膜) 研磨分散于 200 mg KBr 中,压片后用傅立叶红外光谱仪 (Nicolet NEXUS-670, USA) 在 500 ~ 4000 cm^{-1} 范围内扫描. 结果如图 4 红外图谱所示,由于豆腐果苷分子在多个位置上有羟基存在,因此在 3511, 3415, 3228 cm^{-1} 等多个位置上出现—OH 伸缩振动吸收峰,而在纳米纤维膜的图谱上这些峰都消失而在 3427 cm^{-1} 处出现一个缔合吸收峰. 同时豆腐果苷的苯环伸缩振动峰 1607, 1580, 1511 cm^{-1} 在纳米纤维膜图谱上消失,在其指纹区,豆腐果苷众多的尖锐吸收峰都变弱或完全消失. 另外,由于 C=O 的伸缩振动,豆腐果苷和 PVP 分别在 1677 与 1662 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 1658 cm^{-1} . 这些现象说明豆腐果苷分子与 PVP 之间通过氢键发生相互作用,具有较好的相容性^[19,20].

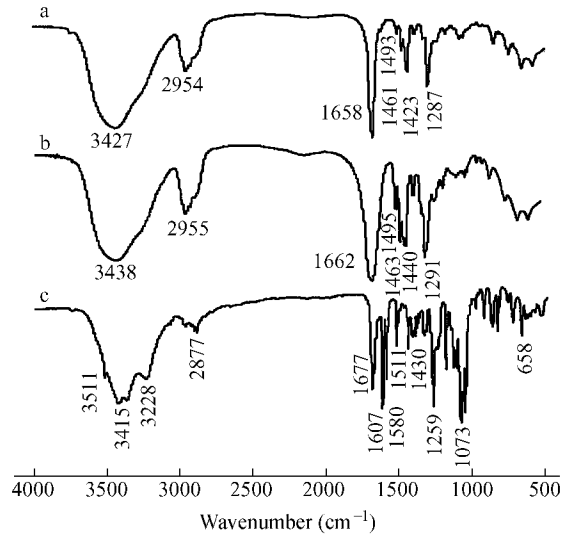


Fig. 4 FTIR spectra of (a) nanofiber membrane, (b) PVP and (c) helcid

5 纤维膜速溶效果

采用 $\Phi 16\text{ cm}$ 的模具从纳米纤维膜上切取小园片进行试验,参照文献[21]方法进行载药纤维膜吸水速溶试验,观察其吸水溶解过程,记录完全溶解时间,并用数码相机拍摄记录(30 帧/秒). 结果如图 5 所示,将纳米纤维膜片放入烧杯中铜网之上(水面与铜网平齐)后,膜片迅速吸水,失去原来的白色,成为透明凝胶附着在铜丝网上,随后凝胶溶解于水中消失,6 次重复结果的平均消失时间为 $(13.7 \pm 2.4)\text{ s}$. 而应用传统铸膜工艺制备的水溶性聚合物 DDS 由于结构上是一个密实的整块,聚合物的溶解需要一个相对较长的时间过程,因此更多用于获得药物缓释控释效果^[22,23].

由于 PVP 载药纳米纤维具有以下特征, (1) 巨大表面积; (2) 立体网状结构引起的巨大孔隙率; (3) 药物在纤维高度分散并以无定形态存在; (4) PVP 的亲水效应和其立体空间阻剂效应能改善难溶药物的润湿性和稳定性,使得水分能够迅速进入纤维膜的各个部分,溶解 PVP 纳米纤维基材的同时,将药物溶解,通过一种“聚合物控释”机制控制药物快速释放^[1,24]. 另一方面,由于纤维中的高空隙率、连续性三维立体空间网络结构,将有利于阻止无定形态药物聚集成颗粒并转化成晶体,比普通铸膜、固体分散体中药物具有更高的储存稳定性能,此内容将进一步研究.

6 结论

采用 DMAc 与甲醇混合溶剂配制豆腐果苷和 PVP 的共溶纺丝液,通过电纺工艺制备出速溶纳

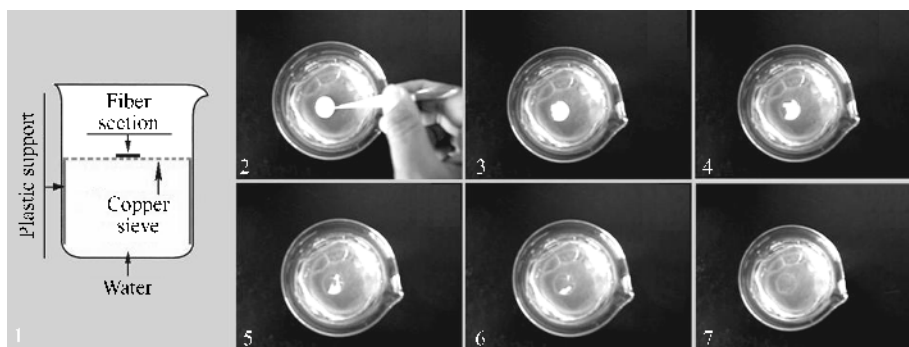


Fig. 5 *In vitro* fast dissolving apparatus and process of nanofiber membrane
(1) Apparatus ; (2 ~ 7) Fast dissolving process

米纤维药膜.膜中豆腐果苷通过氢键作用,以无定形态均匀分散于 PVP 纳米纤维中,并能在 PVP 的控制下,迅速完全溶解.本研究为制备聚合物纳米

纤维膜型 DDS,解决难溶解药物的溶解与吸收、多肽蛋白类药物经口给药等药剂学难点问题提供有益的参考策略与方法.

REFERENCES

- 1 Yu D G, Shen X X, Branford-White C, Kenneth W, Zhu L M, Bligh S W A. *Nanotechnology*, 2009, 20 :55104-1 ~ 9
- 2 Suresh B B, David O, Osborne J L. *Drug Del Tech*, 2003, 3(3) :63 ~ 66
- 3 Kenawy E R, Bowlin G L, Mansfield K, Layman J, Simpson D G, Sanders E H, Wnek G E. *J Control Release*, 2002, 81 :57 ~ 64
- 4 Huang Z M, Zhang Y Z, Kotaki M, Ramakrishna S. *Composite Sci Technol*, 2003, 63 :2223 ~ 2253
- 5 Zhen Hongpeng (甄洪鹏), Nie Jun (聂俊), Sun Junfeng (孙俊峰), Guo Shuang (郭爽), Yang Dongzhi (杨冬芝). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2007, (3) :230 ~ 234
- 6 Zhao Yanan (赵亚男), Li Xiaoran (李晓然), Yuan Xiaoyan (袁晓燕). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2008, (5) :405 ~ 409
- 7 Dzenis Y. *Science*, 2004, 304 :1917 ~ 1919
- 8 Zeng J, Yang L, Liang Q, Zhang X, Guan H, Xu X, Chen X, Jing X. *J Control Release*, 2005, 105 :43 ~ 51
- 9 Sill T J, von Reum H A. *Biomaterials*, 2008, 29 :1989 ~ 2006
- 10 Rutledge G C, Fridrikh S V. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007, 59 :1384 ~ 1391
- 11 Yu D G, Zhu L M, White K, Branford-White C. *Health*, 2009, 1(2) :67 ~ 75
- 12 Verreck G, Chun I, Peeters J, Rosenblatt J, Brewster M E. *Pharm Res*, 2003, 20 :810 ~ 817
- 13 Taylor L S, Zografi G. *Pharm Res*, 1997, 14 :1691 ~ 1698
- 14 Esnaashari S, Javadzadeh Y, Batchelor H K, Conway B R. *Int J Pharm*, 2005, 292 :227 ~ 230
- 15 Rawlinson C F, Williams A C, Timmins P, Grimsey I. *Int J Pharm*, 2007, 336 :42 ~ 48
- 16 Yu Dengguang (余灯广), Yang Xiangliang (杨祥良), Wang Yungan (王运赣), Li Xiaoyan (李晓燕), Xu Huiyi (徐辉碧). *Chinese Traditional Patent Medicine (中成药)*, 2007, 29 :679 ~ 683
- 17 Bühler V. *Kollidon® Polyvinylpyrrolidone for the Pharmaceutical Industry*, 2nd ed. Ludwigshafen :BASF Aktiengesellschaft Feinchemie, 1998
- 18 Sethia S, Squillante E. *Int J Pharm*, 2004, 272 :1 ~ 10
- 19 Nair R, Nyamweya N, Gönen S, Martinez-Miranda L J, Hoag S W. *Int J Pharm*, 2001, 225 :83 ~ 96
- 20 Sin S Y, Wang S L, Cheng Y D. *J Phys Chem Solids*, 2000, 61 :1889 ~ 1893
- 21 Fu Y. *Novel dissolving tablet formulations*. Doctoral Dissertation of University of Purdue University, 2004
- 22 Risbud M V, Hardikar A A, Bhat S V, Bhonde R R. *J Control Release*, 2000, 68 :23 ~ 30
- 23 Ma D, McHugh A J. *J Membrane Sci*, 2007, 298 :156 ~ 168
- 24 Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P. *Drug Discovery Today*, 2007, 12 :1068 ~ 1075

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF FAST-DISSOLVING ELECTROSPUN DRUG-LOADED PVP NANOFIBER MEMBRANES

YU Dengguang¹, SHEN Xiaxia¹, ZHANG Xiaofei¹, BRANFORD-WHITE Chris², ZHU Limin¹

(¹ College of Chemistry, Chemical Engineering and Biotechnology, Donghua University, Shanghai 201620)

(² Institute for Health Research and Policy, London Metropolitan University, 166-220 Holloway Road, London N7 8DB, UK)

Abstract Drug-loaded nanofiber membrane was successfully prepared using electrospinning process with helcid as the poorly water-soluble model drug and polyvinylpyrrolidone (PVP K30) as the filament-forming matrix. Polarization microscopy (PM) and scanning electron microscopy (SEM) were taken to observe the morphology and structure of the nanofibers. Differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD) were carried out to determine the physical status of the drug in the nanofibers. Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was conducted to characterize the interaction between the drug and the polymer. Results from the PM and SEM studies showed that the nanofibers had a very well uniform structure with a diameter of 400 ~ 600 nm and very smooth fiber surface. DSC and XRD results co-demonstrated that helcid lost its original crystal structure, the needle or long rod shape, but highly distributed in the nanofibers due to the forming of chemical complexes between the PVP K30 and the helcid molecules. FTIR spectra clearly showed that the main interactions between PVP and helcid were hydrogen bonding, which was formed between the carbonyl groups of PVP K30 and the hydroxyl groups of helcid and resulted in the firm existence of drug in the fibers. *In vitro* wetting and dissolution tests showed that the nanofiber membranes were able to absorb water and dissolve on the water surface in 13.7 s through the “polymer-controlled” mechanism, exhibiting great potential to provide strategies for resolving one of the most difficult problems in pharmaceuticals—the dissolution and absorbance of poorly water-soluble drugs, and offer novel approaches for preparing oral fast dissolving drug delivery systems or fast acting dosage forms.

Keywords Electrospinning, Drug-loaded nanofibers, Polyvinylpyrrolidone, Fast dissolving, Poorly water-soluble drug