

磁性有序介孔纳米碳靶向药物载体的 制备与控释性能

郑 静^{1,2}, 陈 琳^{1,3}, 张 欢^{1,2}, 杨永珍^{1,3}, 刘旭光^{1,4}, 许并社^{1,3}

(1. 太原理工大学 新材料界面科学与工程教育部重点实验室, 山西 太原 030024)

(2. 太原理工大学化学化工学院, 山西 太原 030024)

(3. 太原理工大学 新材料工程技术研究中心, 山西 太原 030024)

(4. 太原理工大学材料科学与工程学院, 山西 太原 030024)



刘旭光

摘 要: 药物的靶向控释已成为肿瘤化疗研究的热点。以有序介孔纳米碳球(OMCNs)为基质, 先后对其进行磁化、氨基和胍基修饰, 最终制得可与抗肿瘤药物盐酸阿霉素(DOX)共价结合的磁靶向药物载体(HMOMCNs)。利用场发射扫描电子显微镜、X射线衍射分析仪、热重分析仪、傅里叶变换红外分析仪、紫外-可见分光光度计等分析手段对HMOMCNs进行结构表征和性能评价。结果显示: HMOMCNs的粒径约为100 nm左右, 具有丰富的孔道结构, 对DOX的最大载药量为 $529.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; HMOMCNs对DOX具有pH控释性, 随着pH的降低, 其累积释药率增加, 当pH降至5.5时, 10 h累积释药率达到最大, 最大值为76%。

关键词: 有序介孔纳米碳; 磁靶向; 药物缓释; 控释性能; 盐酸阿霉素

中图分类号: TB381 文献标识码: A 文章编号: 1674-3962(2018)01-0043-08

Preparation and Controlled Release Performance of Magnetic Ordered Mesoporous Carbon Nanospheres as Targeted Drug Carrier

ZHENG Jing^{1,2}, CHEN Lin^{1,3}, ZHANG Huan^{1,2},
YANG Yongzhen^{1,3}, LIU Xuguang^{1,4}, XU Bingshe^{1,3}

(1. Key Laboratory of Interface Science and Engineering in Advanced Materials of Ministry of Education, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

(2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

(3. Research Center on Advanced Materials Science and Technology, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

(4. College of Materials Science and Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

Abstract: The controlled release behavior of targeted drug delivery has attracted widespread concern. In this paper, magnetic targeted drug carrier (HMOMCNs), which can covalently bond to anti-cancer drug doxorubicin hydrochloride (DOX), was synthesized from ordered mesoporous carbon nanospheres (OMCNs) through magnetization, amination and hydrazine modification. The structural characterization and performance evaluation of HMOMCNs were carried out by field emission scanning electron microscopy, X-ray diffraction analyzer, thermogravimetric analyzer, Fourier transformation infrared spectroscopy and ultraviolet-visible spectrophotometer. The results showed that the HMOMCNs had a particle size of about 100 nm with good ordered mesoporous structure, and the maximum drug loading capacity was $529.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. The release of DOX from HMOMCNs can be controlled by pH values. With the decrease of the pH value, the cumulative release rate increased. When pH was 5.5, the cumulative release rate was 76% and reached the equilibrium for about 10 h.

Key words: ordered mesoporous carbon nanospheres; magnetic targeting; drug delivery; controlled release; doxorubicin hydrochloride

收稿日期: 2017-04-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(U1610255, U1607120); 山西省科技创新重点团队项目(2015013002-10, 201605D131045-10); 2017年山西省研究生教育创新项目(2017SY017)

第一作者: 郑 静, 女, 1992年生, 硕士研究生

通讯作者: 刘旭光, 男, 1965年生, 教授, 博士生导师, Email: liuxuguang@tyut.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.2018.01.07

1 前言

有序介孔纳米碳球(ordered mesoporous carbon nanospheres, OMCNs)是孔径分布在 2 ~ 50 nm 且孔道结构有序规则的一类多孔碳材料^[1]。OMCNs 的结构特征赋予材料超高的孔隙率,使药物分子能够存在于材料的外表面和孔道结构,极大地增加了药物分子的负载量;同时,OMCNs 表面具有丰富的键合位,易于进行羧基、氨基的修饰,可以更有效地控制药物扩散动力学。OMCNs 具有良好的化学稳定性、热稳定性和高的比表面积,并具有封装和吸附药物分子的相互作用位点,成为一种优秀的药物载体材料^[2]。

目前很多研究者致力于 OMCNs 作为药物载体的研究^[3,4]。Fang 等^[3]以酚醛树脂为原料、三嵌段共聚物为模板剂,制备了 OMCNs,通过调整模板剂量得到了 20 ~ 140 nm 不同粒径范围的 OMCNs,应用于药物缓释,载药量可达 $30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。Zhou 等^[5]以酚醛树脂为碳源,制备了表面修饰透明质酸的具有靶向性的 OMCNs,其载药量为 $41 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。Zhu 等^[6]在强酸催化下,通过优化醇水比以及三嵌段共聚物浓度制备出高比表面积(S_{BET} 为 $998 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)的 OMCNs,负载药物分子依他康唑后的累积释药率比单纯用药的释药率多 59.5%。由此可见,OMCNs 在药物缓释领域具有潜在的应用价值。

但是 OMCNs 的靶向性不足、载药量偏低、药物控释性较差,一定程度上限制了其在生物医学领域的应用。基于纳米材料的磁靶向药物缓释系统为提高 OMCNs 的应用性能提供了新的转机^[7]。磁靶向药物载体可以在外加磁场或内置磁场的作用下达至肿瘤部位,使得药物富集,可有效提高载体的靶向性并改善其在血液循环过程中出现的漏药现象^[8,9],减少药物分子对正常细胞的毒害作用,达到高效治疗癌症的目的。此外,药物载体在外加交变磁场的作用下产生热量^[10],利用这种热量可抑制或杀死癌细胞,达到磁热疗的作用。盐酸阿霉素(DOX)是一种广谱抗肿瘤药物,可嵌入 DNA 而抑制核酸的合成,具有强烈的细胞毒性作用,适用于乳腺癌、肺癌、恶性淋巴瘤等多种癌症,因此,DOX 常用来考察载体的载释药性能。DOX 具有多个芳香环结构,决定其可以和 OMCNs 共价功能化或通过 π - π 作用结合,本文中,DOX 可通过和胍基作用形成酰胺键以及孔道吸附的双重作用完成药物上载。另外,肿瘤细胞由于其不正常的新陈代谢导致其周围 pH 值会低于正常细胞,酰胺键在中性溶液中很稳定,而在酸性溶液中容易断裂,使药物输送体系可以稳定地在体内循环,而到达肿瘤细胞后,释放药物分子,实现药物的自律式靶向控制释放^[11,12]。

为了提高药物载体的载药量和靶向控释性能,本文通过构建基于 OMCNs 的磁性有序介孔纳米碳球^[13](magnetic ordered mesoporous carbon nanospheres, MOMCNs),经氨基和胍基修饰后,最终获得含有胍基可与 DOX 共价结合且具有靶向和控释性能的磁靶向药物载体(hydrazine magnetic ordered mesoporous carbon nanospheres, HMOMCNs),并考察其载释药性能。

2 实验

2.1 MOMCNs 的制备

采用软模板法制备一定量的 OMCNs^[14]。取 0.3 g 的 OMCNs,分散在 5 mL 的无水乙醇中;另取 0.3 g 的 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 溶解在无水乙醇中配成 10% (质量分数)的溶液,并加入 0.4 mL、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 以抑制 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 的水解。将该溶液加到 OMCNs 的乙醇分散液中,超声分散均匀后,加入 10 mL 的去离子水,先加盖搅拌 1 h,然后敞口在通风厨中继续搅拌直至乙醇挥干,最后放置在 50 °C 的烘箱中干燥 12 h。取出样品研磨,置于棕色小瓶,将棕色小瓶放在装有 14% (质量分数)氨水溶液的 10 mL 聚四氟乙烯内胆中(样品和氨水不直接接触),60 °C 水热条件下反应 3 h,待反应釜冷却后,用蒸馏水和乙醇多次离心洗涤水热产物。最后,将产物干燥 12 h 后在 N_2 气氛下,以 $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的升温速率,升到 500 °C 恒温 1 h,得到 MOMCNs。

2.2 HMOMCNs 的制备

取 0.3 g 的 MOMCNs,分散在 60 mL 的乙醇和水的混合溶液中($V_{\text{乙醇}}:V_{\text{水}}=2:1$),加入 2 mL 的硅烷偶联剂 KH-792,并滴加 2 mL 的冰乙酸调节 pH 至 4 ~ 5,超声分散 10 min 后,置于 65 °C 的恒温加热磁力搅拌器中, N_2 保护下反应 4 h。溶液冷却后磁性分离,并用乙醇和水的混合溶液洗涤多次,最后将样品干燥得氨基修饰的 MOMCNs (amination magnetic ordered mesoporous carbon nanospheres, AMOMCNs)。

精确称量 23 mg 的对胍基苯甲酸(4-hydrazinobenzoic acid, HBA) ($0.152 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、29 mg 的碳化二亚胺(N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC) ($0.189 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和 26 mg 的 N-羟基琥珀酰亚胺(N-hydroxysuccinamide, NHS) ($0.226 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),溶于 pH 为 7.4 的 10 mL PBS 缓冲溶液中搅拌 1 h,然后将 10 mg 的 AMOMCNs 加入上述溶液中,25 °C 下避光搅拌 12 h,反应完成后磁性分离,用水多次洗涤反应产物,然后放置在 50 °C 的烘箱中干燥,得到表面具有胍基的磁靶向药物载体 HMOMCNs。

2.3 结构表征

采用 JSM-7001F 型场发射扫描电子显微镜(FESEM)

对产物表面形貌进行表征, 同时用其附属设备能谱仪(EDS)定性分析样品表面元素成分; 用日本 Rigaku D/max 2500 型 X 射线衍射仪(XRD)对样品进行晶相结构分析; 采用德国 CHNOS Elemental 元素分析仪对样品进行元素定量分析; 德国 Netzsch TG-209F3 型热重分析仪(TG)分析样品的热稳定性和修饰效果; 美国 Quadrasorb SI 系列全自动比表面积测定仪测定样品的比表面积和孔结构; 德国 BRUKER TENSOR 27 傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)对产物表面官能团进行分析; 英国 Zetasizer Nano-ZS90 型动态光散射仪(DLS)对样品的表面电荷分布进行测定。

2.4 HMOMCNs 的载药性能

2.4.1 标准工作曲线的建立

以 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液做溶剂, 配制一定浓度的 DOX 溶液, 200~800 nm 下全波长测定 DOX 的吸光度值以确定最大吸收波长。分别配制 60, 30, 15, 7.5, 3.75, 1.875 和 0.9375 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DOX PBS 缓冲溶液, 测定其吸光度值, 以浓度(C)为横坐标, 吸光度(Abs)为纵坐标, 做出 Abs- C 的关系图, 并对其进行线性拟合, 得到 DOX 的标准曲线。

2.4.2 动力学吸附测试

准确称量 4 mg 的 HMOMCNs 于棕色瓶中, 加入 10 mL 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DOX 溶液, 在恒温振荡器 25 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下进行避光载药实验。每隔一定时间, 将溶液磁性分离, 取定量的上清液经 0.22 μm 水相滤膜过滤后, 采用紫外-可见分光光度计(UV-Vis)测试 DOX 的吸光度, 根据标准曲线换算 DOX 的浓度, 再根据式(1)计算出不同时间的载药量 $Q_t(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ 。

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (1)$$

其中: C_0 表示溶液中 DOX 的初始浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C_t 表示 t 时间的 DOX 浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 表示反应溶液的总体积(mL); m 表示加入的 HMOMCNs 的质量(mg)。

2.4.3 等温吸附测试

分别配制 100, 300, 500, 700 和 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 DOX 溶液待用。精确称取 4 mg HMOMCNs 分别加入 10 mL 上述不同浓度的溶液中, 超声 20 min, 待分散均匀后, 将其放置在恒温振荡箱中 25 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 进行避光载药实验。18 h 后, 将溶液取出磁性分离, 取一定量的上清液经 0.22 μm 的水相滤膜过滤后, 采用 UV-Vis 测试剩余 DOX 的吸光度, 并计算浓度, 根据式(2)计算出 HMOMCNs 的载药量 $Q_e(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ 。

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (2)$$

其中: C_e 表示平衡时的 DOX 浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C_0 , V ,

m 表示与式(1)相同。

2.5 HMOMCNs 的释药性能

以 DOX 的初始浓度为 500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 时间为 18 h 进行载药实验。然后将 2 mg 装有 DOX 的 HMOMCNs 分散在 5 mL 的 PBS(pH=7.4)缓冲溶液中, 并将其置于截留分子量为 1 KD 的透析袋中, 将透析袋置于 50 mL 不同 pH(5.5、7.4、8.0)的 PBS 缓冲溶液中。在恒温摇床中 37 $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 避光进行释药实验。每隔一定时间, 取出 2 mL 溶液测吸光度值, 同时取 2 mL 各自 pH 值的 PBS 溶液补充于烧杯中, 利用式(3)计算 DOX 的累积释药率。

$$Q(\%) = \frac{V_0 \times C_T + V_1 \times \sum_{n=1}^{t-1} C}{M \times X} \quad (3)$$

其中: $Q(\%)$ 表示累积释药率; V_0 和 V_1 分别表示溶液的总体积(50 mL)和每次取样的体积(2 mL); C_T 表示 T 时间的 DOX 的释放浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); M 表示加入的装有 DOX 的 HMOMCNs 的总质量(mg); X 表示 HMOMCNs 对 DOX 的载药率($\%$)(载药率=上载的药物量/载体和上载药物的总质量 $\times 100\%$)。

3 结果与讨论

3.1 结构表征

3.1.1 形貌分析

采用 FESEM 观测各阶段产物的形貌, 如图 1 所示。从图 1a 中可以看出, 制备的 OMCNs 球形特征明显, 表面光滑, 粒径均匀, 单分散性较好, 平均粒径大约为 107 nm。在 OMCNs 基础上, 浸渍法制备的 MOMCNs 形貌依然规整, 粒径几乎保持不变(如图 1b)。从图 1c 中可以看出, AMOMCNs 表面略有粘结, 且纳米球周围粗糙不平, 这可能是由于 KH-792 偶联到纳米球表面造成的。图 1d 为 HMOMCNs 的 FESEM 照片, 可以看出表面粘连现象略有缓解, 形貌规整, 粒径均一, 约为 115 nm, 粒径略有增加。

3.1.2 物相和磁性分析

为了考察 MOMCNs 的晶型结构, 验证其中磁性组分的存在形式, 对其进行 XRD 分析。从图 2 中可以看出, 在 15 $^{\circ}$ ~30 $^{\circ}$ 范围内存在一个宽的衍射峰, 对应了酚醛树脂高温碳化生成的无定形碳的(002)晶面。另外在 2 θ 角为 30.15 $^{\circ}$ 、35.56 $^{\circ}$ 、43.31 $^{\circ}$ 、53.70 $^{\circ}$ 、57.26 $^{\circ}$ 和 62.90 $^{\circ}$ 处出现了明显的衍射峰, 分别对应 Fe_3O_4 的(220)、(311)、(400)、(422)、(511)、(440)晶面, 由此确定 MOMCNs 中的磁性组分是 Fe_3O_4 纳米粒子。

通过 Scherrer 公式(4)可以计算出 Fe_3O_4 纳米粒子的平均晶粒为 21.35 nm。

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (4)$$

其中: D_{hkl} 表示晶面法线方向的晶粒大小; K 为形状因子, 取 $K=0.89$; $\lambda=0.154\text{ nm}$; β 表示半峰宽度, 单位以弧度(rad)表示; θ 为布拉格衍射角(rad)。

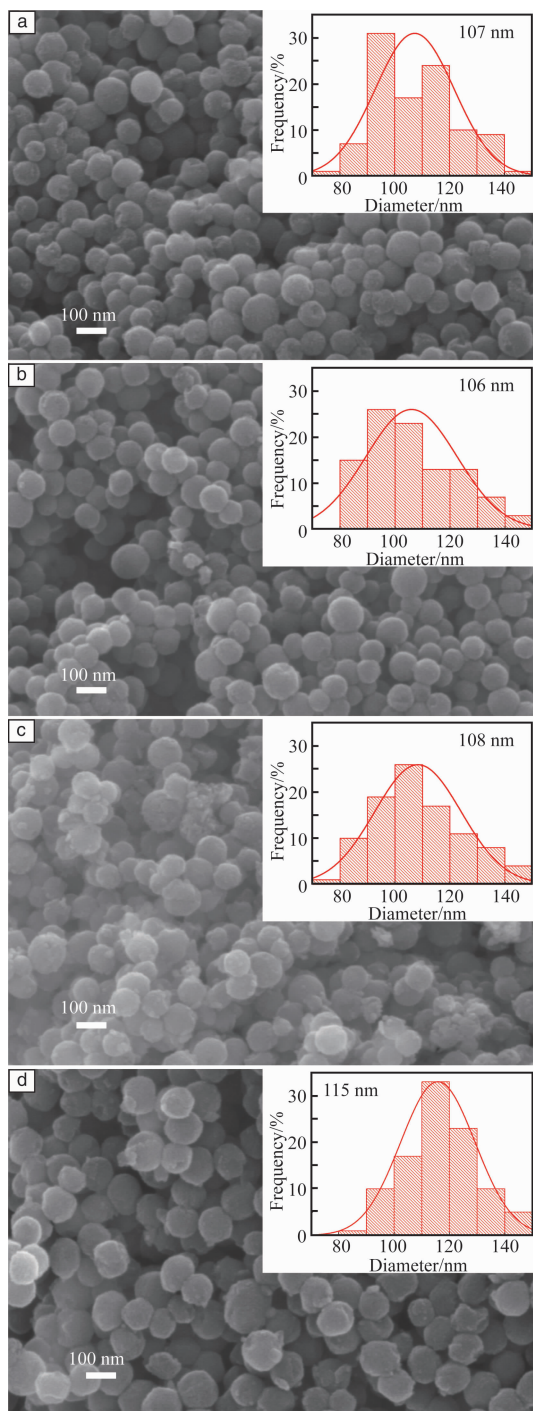


图 1 OMCNs(a), MOMCNs(b), AMOMCNs(c) 和 HMOMCNs(d) 的 FESEM 照片(插图为粒径分布图)

Fig. 1 FESEM images and particle diameter distributions (insets) of OMCNs (a), MOMCNs (b), AMOMCNs (c) and HMOMCNs (d)

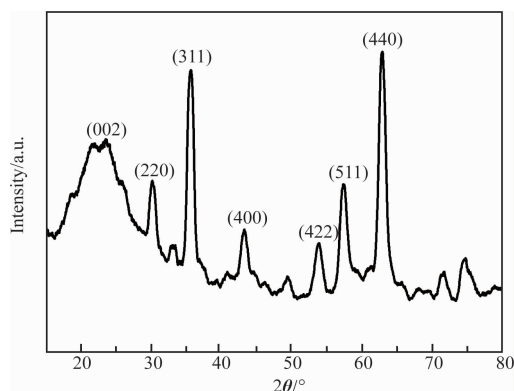


图 2 MOMCNs 的 XRD 图谱

Fig. 2 XRD pattern of MOMCNs

图 3a 是 HMOMCNs 在 298 K 下的磁滞回线, 在 15000 Oe 的磁场强度下, HMOMCNs 的磁饱和强度 (M_s) 为 $8.56\text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$, 在相同的磁场强度下, 远远低于纯的 Fe_3O_4 单晶体的理论值 ($92.0\text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$ [15]), 这是由于 Fe_3O_4 纳米颗粒的粒径越小, 表面的非磁比例就会增大, 又因为碳层的包覆也会降低颗粒的饱和磁化强度, 剩磁和矫顽力分别约为 $1.32\text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 97 Oe, 展现了 HMOMCNs 的近顺磁性特征。图 3b 是 HMOMCNs 的 PBS 溶液在磁铁作用前后的照片。当磁强为 0.24 T 的磁铁靠

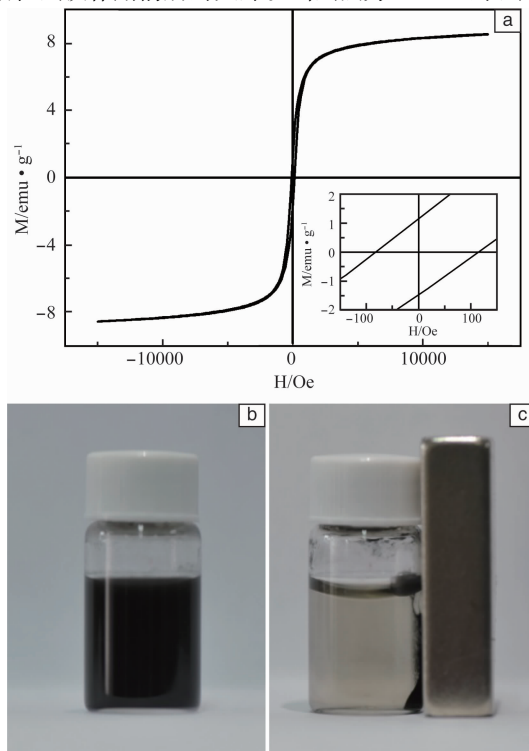


图 3 HMOMCNs 的磁滞回线(a)及其 PBS 分散液在磁铁作用前后照片(b)和(c)

Fig. 3 Magnetization curve (a) and photograph of magnetic separation of HMOMCNs in PBS dispersion liquid (b) and (c)

近分散液时, HMOMCNs 会向有磁铁的一端移动, 最终在样品瓶侧面聚集, 证实 HMOMCNs 的磁性特征明显, 可以在外加磁场的作用下实现靶向定位, 此外在合成和提纯过程中也可用磁性分离。

3.1.3 元素分析

为证实 AMOMCNs 的表面元素组分, 利用 FESEM 的附件 EDS 对样品的表面元素进行分析。从图 4 看出, AMOMCNs 表面有碳元素、氮元素、氧元素和硅元素, 这是 OMCNs 自身结构的性质决定的, 碳含量占 90.09% (原子比)。铁元素的出现, 说明由浸渍法制备 MOMCNs 的过程中, 将铁元素引入了 OMCNs 中。硅元素和氮元素的存在, 进一步表明 KH-792 已经接枝在 MOMCNs 的表面。

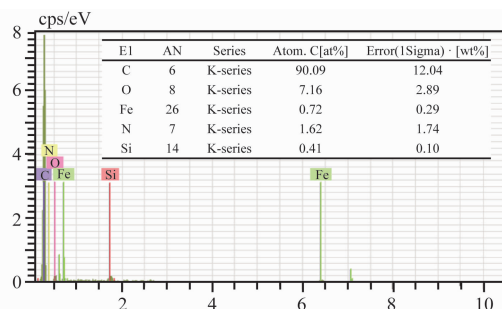


图4 AMOMCNs 的 EDS 谱图

Fig. 4 EDS spectrum of AMOMCNs

为了进一步验证氨基的引入, 分别对 OMCNs 和 AMOMCNs 进行了元素分析。对比表 1 发现, 氮元素由 0.31% 增加到了 1.56%, 碳元素含量由 95.42% 减少到 76.41%, 计算可得氧元素的含量由 2.84% 增加到 19.85%。这可能是硅烷偶联剂 KH-792, 将末端的氨基修饰到了 MOMCNs 的表面, 导致氮元素含量增加, 同时硅、氧元素的含量相对增大, 导致碳元素含量相对减少, 表明 KH-792 被修饰在 MOMCNs 表面。

表1 OMCNs 和 AMOMCNs 的元素分析

Table 1 The elementary analysis of OMCNs and AMOMCNs ($\omega/\%$)

Samples	Weight	N	C	H	O
OMCNs	3.168	0.31	95.42	1.43	2.84
AMOMCNs	2.958	1.56	76.41	2.18	19.85

3.1.4 接枝度分析

图 5 中是各阶段产物在 N_2 下的 TG 曲线。从图 5a 中看出, MOMCNs 自 400 $^{\circ}C$ 开始失重, 800 $^{\circ}C$ 时的失重率为 28.35%, 而 AMOMCNs 在 800 $^{\circ}C$ 时的失重率增加至 43.25%, 表明 KH-792 接枝在了 MOMCNs 的表面。800 $^{\circ}C$ 时 HMOMCNs 的失重率增加至 47.62%, 说明胍基被修饰

到 AMOMCNs 的表面。从图 5b 的 DTG 曲线中可以看出, AMOMCNs 在 710 $^{\circ}C$ 附近有一个分解温度, 而 HMOMCNs 有 231 $^{\circ}C$ 和 610 $^{\circ}C$ 两个分解温度, 低温的失重可能是由于表面接枝稳定性较低的官能团导致, 这也证实 HBA 在 AMOMCNs 表面的接枝。

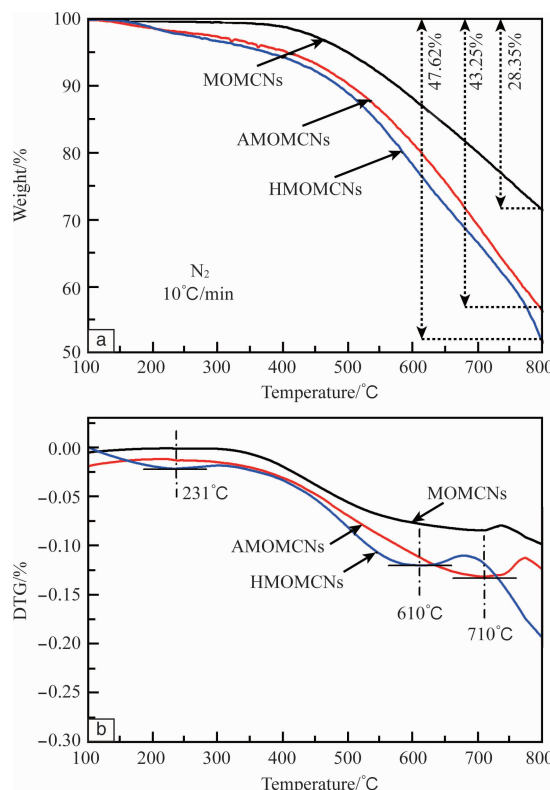


图5 N_2 气氛下 MOMCNs, AMOMCNs 和 HMOMCNs 的 TG 曲线(a)和 DTG 曲线(b)

Fig. 5 TG (a) and DTG (b) curves of MOMCNs, AMOMCNs and HMOMCNs

3.1.5 比表面积和孔结构分析

图 6 是各阶段产物的 N_2 吸附-脱附曲线和孔径分布图。从图 6a 中可以看出, 4 个样品的 N_2 吸附-脱附曲线类型一致, 根据 IUPAC 分类, 曲线类型均属于 IV 型曲线, 表明产物均属于介孔材料。同时, 曲线中滞后环的存在, 说明样品的孔径较均一。

表 2 总结了 OMCNs、MOMCNs、AMOMCNs 和 HMOMCNs 的比表面积、孔体积和孔径。从表中可以看出, OMCNs 的 S_{BET} 为 $604.382 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, 孔体积(V_{total})为 $0.490 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, 孔径为 3.058 nm, 属于高比表面积介孔材料。一般来说, 未经磁化的 OMCNs 因其具有较高的比表面积而具有高的载药量, 而经过磁化或功能化修饰的材料其比表面积会有降低, 载药量也会有一定的降低。经过浸渍和退火磁化处理后, MOMCNs 的 S_{BET} 降低了 $148.612 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, V_{total} 略有升高, 可能是 Fe_3O_4 纳米颗粒本身密度大, 比表面积小, 其镶嵌

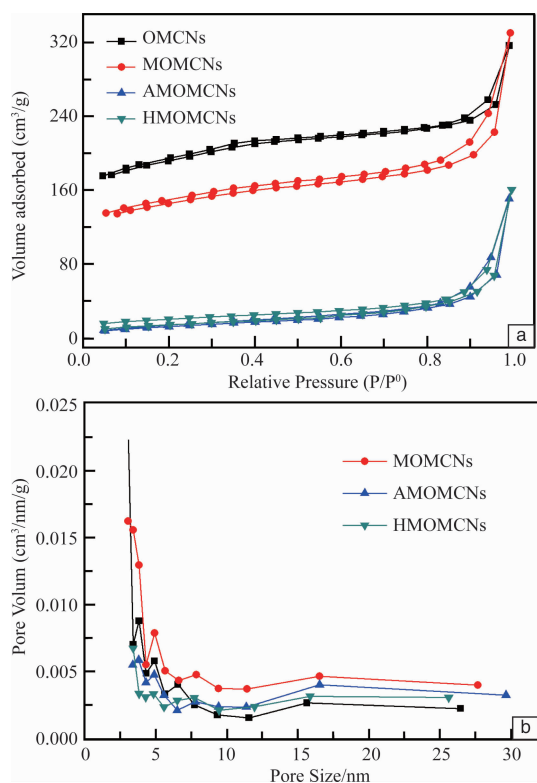


图6 OMCNs, MOMCNs, AMOMCNs 和 HMOMCNs 的 N_2 吸附-脱附曲线 (a) 和孔径分布图 (BJH 方法) (b)

Fig. 6 N_2 adsorption-desorption curves (a) and the pore size distribution curves (BJH method) (b) of OMCNs, MOMCNs, AMOMCNs and HMOMCNs

在 MOMCNs 的碳层结构中, 占据或堵塞材料的孔结构, 再次退火处理时, 碳骨架膨胀, 导致孔容增大, 材料比表面积减小。研究经验表明: 介孔纳米碳材料被磁化的程度将影响材料的比表面积、孔径和孔结构, 进而影响药物的上载与释放性能^[16]。与 MOMCNs 相比, AMOMCNs 的 S_{BET} 降低了 $407.644 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, V_{total} 从 $0.510 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ 降低到 $0.234 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ 。一方面, 由于 KH-792 交联聚合在 MOMCNs 的表面, 堵塞了部分介孔结构; 另一方面, S_{BET} 的测试是在干态的真空条件下进行的, 接枝在 MOMCNs 表面的 KH792 也是以聚合物的干态存在, 孔隙特征不明显, 导致 S_{BET} 的降低。此外, 与 MOMCNs 相比, AMOMCNs 的孔径由 3.054 nm 增加至 3.794 nm , 这可能是因为接枝修饰后形成的聚合物表面也有一定的网状结构和缺陷使得其孔径增加。HMOMCNs 的 S_{BET} 和 AMOMCNs 相比, 略有增大, 可能是在接枝 HBA 的过程中增大了载体表面的粗糙度, 增大了 S_{BET} , V_{total} 也略有增大, 孔径减小。药物分子的粒径通常在 1.5 nm 以上, 当载体的孔径至少大于药物分子粒径的 1.5 倍时才能有较好的吸附作用^[5], 所以本文制备的 HMOMCNs 药物载体可以满足这样的要求。

表2 OMCNs, MOMCNs, AMOMCNs 和 HMOMCNs 的比表面积、孔径和孔体积

Table 2 Specific surface areas and pore parameters of OMCNs, MOMCNs, AMOMCNs and HMOMCNs

Samples	$S_{BET} (\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$	$V_{total} (\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1})$	Pore diameter (nm)
OMCNs	604.382	0.490	3.058
MOMCNs	455.770	0.510	3.054
AMOMCNs	48.126	0.234	3.794
HMOMCNs	52.790	0.248	3.395

3.1.6 表面官能团分析

利用 FTIR 光谱对反应各阶段产物的官能团进行表征, 结果如图 7 所示。OMCNs 在 3439 cm^{-1} 处宽的吸收峰为其 -OH 官能团的吸收峰; 在 2926 、 1635 和 1400 cm^{-1} 处出现的吸收峰分别是由 -C-H、-C=O 和 -C=C 等官能团产生。上述吸收峰的存在证明 OMCNs 表面含有丰富的官能团。对比 MOMCNs 和 OMCNs 的吸收光谱发现, -OH 的峰强相对减弱, 而且在 3125 cm^{-1} 处出现了 -N-H 的吸收峰, 这可能是由于在制备 MOMCNs 的过程中使用氨水水热处理 OMCNs, 少量氨水参与了反应, 在 OMCNs 表面形成 -N-H 造成的。和 MOMCNs 相比, AMOMCNs 在 1077 cm^{-1} 处新的吸收峰, 归因于 Si-O 的伸缩振动峰, 表明 KH-792 接枝到了 MOMCNs 的表面, 而 KH-792 中 N-H 的伸缩振动峰和弯曲振动峰均与原 MOMCNs 的 FTIR 光谱中的吸收峰重合, 故无明显变化。HMOMCNs 表面引入苯环和酰胺键, 二者的特征吸收峰均出现在 1635 cm^{-1} 附近, 与之前的吸收峰重合, 因此 HMOMCNs 的 FTIR 光谱没有明显的变化。

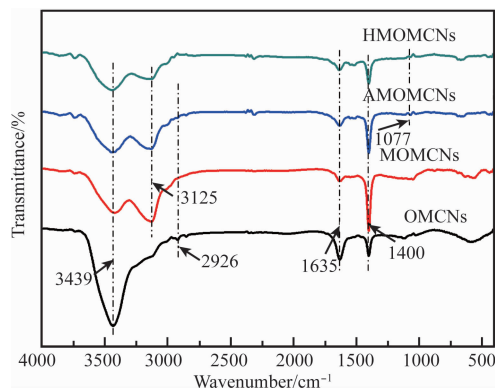


图7 OMCNs, MOMCNs, AMOMCNs 和 HMOMCNs 的红外光谱图
Fig. 7 FTIR spectra of OMCNs, MOMCNs, AMOMCNs and HMOMCNs

3.1.7 表面电荷分布分析

为了研究在 OMCNs 表面修饰不同官能团或化合物对各阶段产物的表面电荷变化以及颗粒之间相互排斥或吸引力强度的影响, 分别对各阶段产物进行了 Zeta 电位测

试,以反映分散体系的稳定性,每种样品的电位均在 10 mV 以内,这是由于悬浮在溶液中的纳米粒由于氢键和范德华力的作用容易吸引团聚,体系不稳定,导致其 Zeta 电位较低。其中,OMCNs 的电位是 7.60 mV,而 MOMCNs 的电位是 8.20 mV,说明磁性组分的引入并没有明显改变 OMCNs 的表面电荷。AMOMCNs 的电位只有 0.79 mV,表明氨基的修饰使得 AMOMCNs 表面活性增大,在溶液中的稳定性变差,更易于快速凝聚。加入 HBA 后, HMOMCNs 的电位提高至 4.97 mV,稳定性增加,这是由于表面部分氨基与羧基苯肼反应造成的。各阶段产物在表面电荷分布上发生的变化,说明每一步的修饰都达到了预期的效果。

3.2 载释药性能评价

3.2.1 标准曲线

经全波长测定 DOX 的最大吸收波长在 480 nm 处,通过线性回归可得 Abs-C 的关系,如图 8 所示,标准曲线方程为: $y=0.01645x$, $R^2=0.99969$ 。

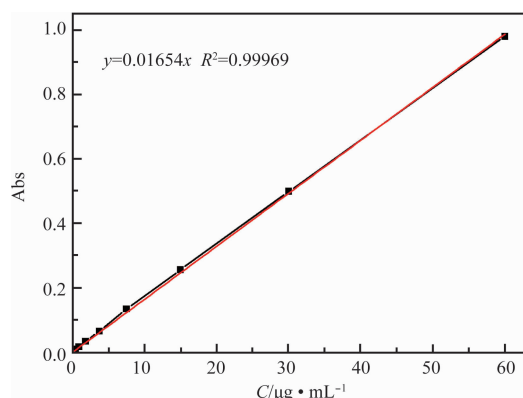


图 8 DOX 的标准曲线

Fig. 8 The standard curve of DOX

3.2.2 载药性能

考察 HMOMCNs 对 DOX 的吸附平衡时间和最大平衡吸附量, 25 °C 下 HMOMCNs 对 DOX 的动力学吸附曲线和不同浓度的等温吸附曲线如图 9。

从图 9a 可以看到,在吸附开始时, HMOMCNs 对 DOX 的吸附量随着时间的增大而快速增大,随后减缓并趋于稳定,在 18 h 基本达到平衡,平衡时的吸附量为 $131.91 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。图 9b 中, HMOMCNs 对 DOX 的平衡吸附量随着 DOX 初始浓度的增大而逐渐增大。当 DOX 初始浓度达到 $500 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,最大平衡吸附量为 $529.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,之后不随初始浓度发生变化。

Zhang 等^[17]制备了 S_{BET} 为 $393 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 的空心 MOMCNs,并应用于药物缓释领域,结果显示对 DOX 的载药量为 $375 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而本文的 HMOMCNs 的 S_{BET} 为 $52.790 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$,但最大载药量 ($529.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 却高于空心 MOMCNs 的

载药量。推测在 DOX 的载药过程除了有孔道吸附作用外, DOX 和 HMOMCNs 表面胍基的酰胺键作用可以明显提高 DOX 的上载量。

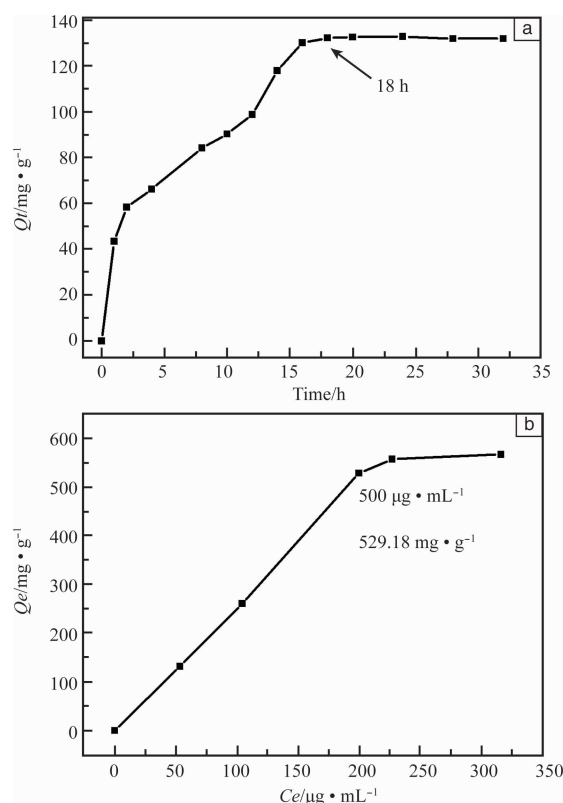


图 9 25 °C 时 HMOMCNs 的动力学吸附曲线(a)和等温吸附曲线(b)

Fig. 9 Effect of contact time on the adsorption of DOX ($100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) onto HMOMCNs (a) and isothermal adsorption of DOX onto HMOMCNs at 25 °C (b)

3.2.3 释药性能

图 10 是在 37 °C 下, DOX-HMOMCNs 在不同 pH 下的释药曲线,从图 10 中可以看出,在不同 pH 环境下, DOX 可以从载体上缓慢释放,说明 HMOMCNs 确实有一定的缓释作用,且基本在 10 h 左右释放达到平衡,改变缓冲溶液的 pH 值可以有效控制 DOX 的释药。当 pH 为 8.0 时,释药率仅为 13%,随着 pH 的降低至 7.4 时,释药率增加为 31%,继续降低 pH 为 5.5, DOX 的释药率达到了 76%。HMOMCNs 之所以具有 pH 响应性,有以下两个原因:一方面, HMOMCNs 与 DOX 的结合是由于对酸敏感的酰胺键,在酸性条件下容易断裂,在中性及弱碱条件下较稳定;另一方面,由于 HMOMCNs 和 DOX 之间有 $\pi-\pi$ 堆积作用和疏水作用,中性和弱碱条件下, DOX 会脱盐而变得疏水与载体紧密结合,而在酸性条件下, DOX 被质子化,亲水性增强,从而容易释放在溶液中。

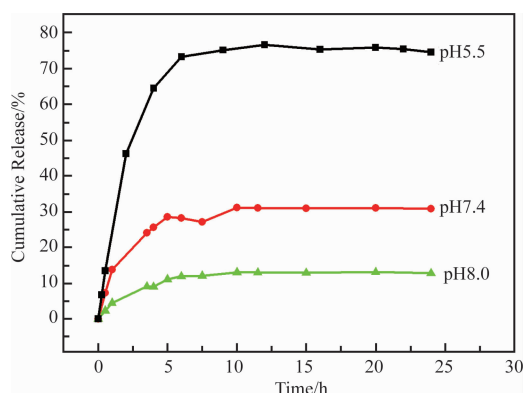


图 10 37 °C 时 HMOMCNs 在不同 pH 下的释药曲线

Fig. 10 DOX release curves of the HMOMCNs under different pH value at 37 °C

4 结 语

为了改善纳米药物载体在输送药物过程中容易发生的漏药现象,提高纳米药物载体材料对药物的控释能力,本实验设计通过共价结合的脰键作用和孔道吸附的双重作用共同将 DOX 负载在 HMOMCNs 药物载体上,一方面提高载药量,另一方面实现药物的控释。结果表明:

(1)以 OMCNs 为载体,经过磁性、氨基和胍基化修饰后,制备可以和 DOX 共价结合的载体 HMOMCNs,其球形形貌规整,粒径为 100 nm 左右,孔径为 3.395 nm,磁性特征明显,可以达到磁靶向输送药物的目的;

(2)分别进行吸附动力学测试和等温吸附测试,考察 HMOMCNs 对 DOX 的负载能力,结果显示,当载药时间为 18 h、DOX 初始浓度为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,载药量达到最大,为 $529.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;

(3)HMOMCNs 药物载体对 DOX 具有明显的 pH 控释能力,缓释速率和累积释药率随着 pH 值变化而变化。当 pH=5.5 时,累积释药率在 10 h 达到最大,最大值为 76%。

参考文献 References

- [1] Lu A H, Schmidt W, Matoussevitch N, et al. *Angewandte Chemie [J]*, 2004, 116(33): 4403.
- [2] Huang Xuan, Wu Shanshan, Du Xuezhong. *Carbon [J]*, 2016, 101: 135–142.
- [3] Fang Yin, Lv Yingying, Gong Feng, et al. *Journal of the American Chemical Society [J]*, 2015, 137: 2808–2811.
- [4] Fang Yin, Zheng Gengfeng, Yang Jianping, et al. *Angewandte Chemie International Edition [J]*, 2014, 53: 5366–5370.
- [5] Zhou Li, Dong Kai, Chen Zhaowei, et al. *Carbon [J]*, 2015, 82: 479–488.
- [6] Zhu Xiaojing, Wang Sha, Huang Wenquan, et al. *Carbon [J]*, 2016, 105: 521.
- [7] Li Chun. *Nature Materials [J]*, 2014, 13(2): 110–115.
- [8] Kapri S, Maiti S. *Carbon [J]*, 2016, 100: 223–235.
- [9] Kesharwani P, Tekade R K, Jain N K. *Biomaterials [J]*, 2014, 35: 5539–5548.
- [10] Chen Lin, Li Longfei, Zhang Huan, et al. *RSC Advances [J]*, 2014, 4 (87): 46806–46812.
- [11] Zhu Jie, Liao Lei, Bian Xiaojun, et al. *Small [J]*, 2012, 8(17): 2715–2720.
- [12] Wang Hui, Yi Jinhui, Mukherjee S, et al. *Nanoscale [J]*, 2014, 6: 13001–13011.
- [13] Wu Zhangxiong, Li Wei, Webley P A, et al. *Advanced Materials [J]*, 2012, 24(4): 485–491.
- [14] Qin Lei, Shi Weiping, Liu Weifeng, et al. *RSC Advances [J]*, 2016, 6 (15): 12504–12513.
- [15] Sun Shouheng. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials [J]*, 2014, 24(1): 33–38.
- [16] Zhong Sunni, Chen Yanzhong, Song Fenyun, et al. *Science of Advanced Materials [J]*, 2015, 7(12): 2508–2514.
- [17] Zhang Shengjian, Qian Xiaoqing, Zhang Linlin, et al. *Nanoscale [J]*, 2015, 7(17): 7632–7643.

(本文为本刊约稿,编辑 惠 琼)