

氟尿苷-层状双金属氢氧化物纳米杂化物制备及表征

李艳红 徐 洁 张少杰 李东祥 郑 斌 侯万国*

(青岛科技大学化学与分子工程学院, 青岛 266042)

摘要: 采用共沉淀法将抗癌药物氟尿苷插入 Mg-Al 层状双金属氢氧化物(LDHs)的层间, 合成了氟尿苷-LDHs 纳米杂化物。依据氟尿苷分子大小和杂化物通道高度推测, 氟尿苷分子是以长轴垂直或略倾斜于 LDHs 层片在 LDHs 层间呈双层排列。分别在 pH=4.8 和 7.2 的介质中研究了药物释放动力学, 表明符合准二级动力学方程; 释放速率随载药量增大而降低; 氟尿苷-LDHs 纳米杂化物具有良好的缓释效果。

关键词: 层状双金属氢氧化物; 氟尿苷; 纳米杂化物; 药物控释

中图分类号: O613.43; O614.22; O614.3+1

文献标识码: A

文章编号: 100-4861(2009)12-2124-05

Synthesis and Characterization of Floxuridine-Layered Double Hydroxide Nanohybrids

LI Yan-Hong XU Jie ZHANG Shao-Jie LI Dong-Xiang ZHENG Bin HOU Wan-Guo*

(College of Chemistry and Molecular Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042)

Abstract: The intercalation of Floxuridine into layered double hydroxide(LDHs) was used via coprecipitation method to obtain Floxuridine-LDHs nanohybrids. According to the gallery height of Floxuridine-LDHs and size of floxuridine molecule, a possible morphology of floxuridine molecules in the gallery of LDHs is suggested that floxuridine molecules are intercalated into the gallery of LDHs with a vertical-arranged bilayer along the long axis. The release kinetics of floxuridine from the nanohybrids was investigated at pH value of 4.8 and 7.2, respectively. It is found that the nanohybrids can control the release of floxuridine, and the in vitro drug release from the nanohybrids is remarkably lower than that from the corresponding physical mixture. The release rate of floxuridine decreases with the increase of floxuridine loading and the whole release process may fit to the pseudo-second-order release kinetics.

Key words: Layered double hydroxide; floxuridine; nanohybrids; controlled release

0 引 言

抗癌药物在治疗过程中通常存在毒副作用大, 靶向性差等缺点, 研制药物的靶向输送和控释系统是提高药效、降低毒副作用的有效途径。已研究的药物输送-控释载体的种类很多^[1], 如聚合物、纳米粒子, 脂质体等, 近期一种生物相容性好的无机层状材料-层状双金属氢氧化物 (Layered double hydroxides, LDHs) 引起人们关注^[2,3]。

LDHs 的层间可作为微型储存器, 采用共沉淀、离子交换或结构重建等方法可将药物分子插入其中, 形成药物-LDHs 纳米杂化物。因药物与 LDHs 层板的相互作用和空间位阻效应而可有效控制药物分子的释放, 是具良好发展潜力的药物输送-控释体系^[4]。LDHs 自身即可为抗胃酸药物^[5], 作为药物输送-控释载体具有以下优点^[3]: 一是生物相容性好, 可生物降解, 在细胞内的酸性环境中可溶解为离子, 通过细胞膜上的离子通道外排; 二是无需表面修饰

收稿日期: 2009-05-28。收修改稿日期: 2009-09-16。

国家自然科学基金(No.50772062)和山东省泰山学者基金(No.ts20070713)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: wghou@sdu.edu.cn

第一作者: 李艳红, 女, 27 岁, 硕士研究生; 研究方向: 胶体与界面化学。

即可实现药物分子的承载;三是可明显提高药物的稳定性;四是品种繁多,可提供丰富的基体材料等。

氟尿苷化学名为 2'-脱氧-5-氟尿苷(2'-Deoxy-5-Floxuridine),是氟尿嘧啶的脱氧核苷衍生物^[6],分子式为 $C_9H_{11}FN_2O_5$ 。对肝癌、胃肠道癌、乳腺癌和肺癌等有效,尤其对无法手术的原发性肝癌疗效显著;易溶于酸、碱液等溶液;主要副作用为神经和心肌毒性,临床常见为腹泻、恶心等。本工作采用共沉淀法^[7]合成了氟尿苷-Mg-Al-LDHs 纳米杂化物,研究了药物释放动力学,以期考察其控释效果,以期为新药物输送-控释体系的研制提供基础数据。

1 实验部分

1.1 试剂

氯化镁($MgCl_2 \cdot 6H_2O$, A.R.),天津市广成化学试剂有限公司;结晶三氯化铝($AlCl_3 \cdot 6H_2O$, A.R.),天津市博迪化工有限公司;氟尿苷(含量 $\geq 98.5\%$),北京瑞博奥科技有限公司;磷酸氢二钠($NaH_2PO_4 \cdot 12H_2O$, A.R.),天津市广成化学试剂有限公司;柠檬酸($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$, A.R.),烟台双双化工有限公司;高纯水,AFZ-1000-U 型艾克浦超纯水机(重庆颐洋企业发展有限公司)制备。

1.2 实验方法

1.2.1 纳米杂化物与纯 LDHs 的制备及表征

采用共沉淀法合成氟尿苷-LDHs 纳米杂化物。称取 4.06 g(0.02 mol) $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 和 2.41 g(0.01 mol) $AlCl_3 \cdot 9H_2O$ 于 60 mL 去高纯水中配成混合盐溶液;称取 1.23 g(0.005 mol)的氟尿苷溶解于 50 mL 6%的氨水溶液中;在搅拌下,把氟尿苷碱溶液滴加到混合盐溶液中,用浓氨水调节体系的 pH 值至 9.5 左右;30 °C 下反应 2 h,静置 3 h;经离心、洗涤处理后于 60 °C 下胶溶 24 h,真空干燥即得到纳米杂化物产品,记为 S1。按照同样的方法,增加氟尿苷的用量,制备另外两个纳米杂化物样品记为 S2 和 S3。不加氟尿苷药物时即可制得 Mg-Al-LDHs 样品。

采用日本理学 D/max-rA 型 X 射线衍射仪分析样品的晶体结构(Cu 靶, $K\alpha$ 射线, $\lambda=0.15418$ nm, 电流 70 mA, 电压 40 kV, 2θ 范围 $2^\circ \sim 70^\circ$, 扫描速度 $10^\circ \cdot \text{min}^{-1}$, 扫描步长 0.02° , 石墨单色器);采用德国 Bruker 公司 Vertex 70 型傅里叶红外光谱仪分析样品的红外光谱(KBr 压片,样品与 KBr 的质量比为 1:100, 波长范围 $4000 \sim 400$ cm^{-1} , 分辨率 1 cm^{-1});采用美国 Leeman 公司 prodigy XP 型等离子体原子发射

光谱(ICP)测定样品中镁、铝离子含量;采用德国 Elementar 公司 Vario EL III 型元素分析仪分析样品的 C、H、N 等元素含量。

1.2.2 载药量的测定

氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的载药量(A_{ld})采用紫外-可见分光光度计法测定^[8]。精确称取 0.001 g 纳米杂化物于 10 mL 烧杯中,加入 1 mL 浓度为 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液,使 LDHs 的无机层板溶解,然后用柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液(pH=7.2)于 50 mL 容量瓶中定容。采用 TU-1901 型紫外分光光度计(北京谱析通用公司)于波长 269 nm 处测定溶液的吸光度,据标准曲线得出溶液中氟尿苷的含量。根据所取纳米杂化物质量和溶液中氟尿苷的含量计算出 A_{ld} 。

1.2.3 药物释放动力学

在 pH=4.8 和 7.2 的缓冲溶液中考查氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的药物释放动力学^[9,10]。称取 0.02 g 纳米杂化物样品加入到 0.5 L 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液中,在 SHA-B(A)型恒温振荡器中于 37 ± 0.5 °C 下振荡。每隔一段时间从体系中取出 4 mL,立即用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤,采用 TU-1901 型紫外分光光度计测定溶液在 269 nm 处的吸光度,得出溶液中氟尿苷的含量,进而求得不同时刻(t)的释放百分率(X_t)。作为对比,分别称取同量的氟尿苷和 LDHs 样品,经研磨制得二者的物理混合物,用上述方法测定其不同时刻氟尿苷的释放。

2 结果与讨论

2.1 氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的制备与表征

所制备的氟尿苷-LDHs 纳米杂化物 3 个样品 S1、S2 和 S3 的 C、H、N 含量及由元素分析结果推断出的化学组成式见表 1。纳米杂化物中 Mg/Al 物质的量的比与纯 LDHs 样品基本一致,说明氟尿苷的加入基本不影响 LDHs 层状结构中金属元素的组成。采用紫外-可见分光光度计法测定的纳米杂化物的载药量见表 2,样品 S1、S2 和 S3 的载药量分别为 26.03%、38.12%和 49.95%,与元素分析结果基本一致。

图 1 是 LDHs 和氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的 XRD 图。可以看出,所合成的 LDHs 样品具有典型的水滑石衍射峰(PDF card No.51-1528),说明样品具有良好的层状晶体结构;在 $2\theta=11^\circ$ 附近的衍射峰是 003 峰,其 d 值为层间距(d -spacing)。由图 1 可知,所合成 LDHs 样品的层间距为 0.78 nm。氟尿苷-LDHs

表 1 LDHs 和氟尿苷-LDHs 纳米杂化物样品的化学组成

Table 1 Chemical composition of LDHs and Floxuridine-LDHs samples

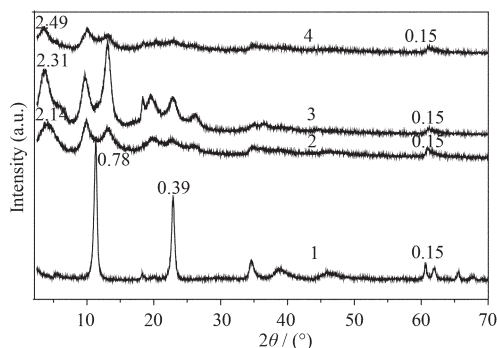
Sample	C / %	H / %	N / %	Chemical formula
LDHs	0.76	4.36	/	$[\text{Mg}_{0.65}\text{Al}_{0.35}(\text{OH})_2]\text{Cl}_{0.24}(\text{CO}_3)_{0.06} \cdot 0.89\text{H}_2\text{O}$
S1	10.79	5.28	2.74	$[\text{Mg}_{0.65}\text{Al}_{0.35}(\text{OH})_2](\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FN}_2\text{O}_5)_{0.13}\text{Cl}_{0.18}(\text{CO}_3)_{0.02} \cdot 1.81\text{H}_2\text{O}$
S2	17.42	5.95	4.36	$[\text{Mg}_{0.63}\text{Al}_{0.37}(\text{OH})_2](\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FN}_2\text{O}_5)_{0.33}(\text{CO}_3)_{0.01} \cdot 3.74\text{H}_2\text{O}$
S3	19.03	5.16	4.90	$[\text{Mg}_{0.64}\text{Al}_{0.36}(\text{OH})_2](\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FN}_2\text{O}_5)_{0.29}\text{Cl}_{0.08}(\text{CO}_3)_{0.02} \cdot 1.81\text{H}_2\text{O}$

表 2 LDHs 和氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的载药量和层间距

Table 2 Loadings and *d*-spacing of LDHs and Floxuridine-LDHs

Sample	$A_{\text{fl}} / \%$	<i>d</i> -spacing / nm	$H_{\text{gh}} / \text{nm}$	$k_2 / (\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{g})$	
				pH=4.8	pH=7.2
LDHs	/	0.78	0.30	/	/
S1	26.03	2.14	1.66	0.47	0.40
S2	38.12	2.31	1.83	0.25	0.29
S3	49.95	2.49	2.01	0.19	0.22

A_{fl} : loading; H_{gh} : Gallery height



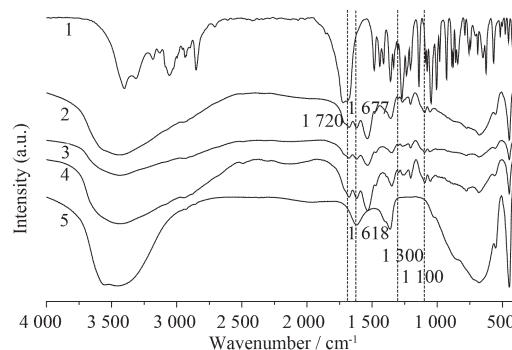
(1) LDHs; (2) S1; (3) S2; (4) S3

图 1 LDHs 和氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的 XRD 图

Fig.1 XRD patterns of LDHs and Floxuridine-LDHs samples

纳米杂化物呈现出 LDHs 层状结构的衍射峰,但 003 峰明显移向低 2θ 方向,层间距明显增大;样品 S1、S2 和 S3 的层间距值分别为 2.14、2.31 和 2.49 nm (见表 2),说明氟尿苷插入到 LDHs 的层间^[11]。由表 2 还可看出,即随载药量的增大,层间距值增大。LDHs 的层片厚度约 0.48 nm^[12],层间距减去层片厚度称为通道高度(gallery height, H_{gh}),可知样品 LDHs、S1、S2 和 S3 的 H_{gh} 值分别为 0.30、1.66、1.83 和 2.01 nm,通道高度的增大是氟尿苷插层所致。

图 2 是氟尿苷、LDHs 和氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的红外光谱图。纳米杂化物 (图中曲线 2,3,4) 在 1677 和 1618 cm^{-1} 处的吸收峰是氟尿苷分子结构中 2 个 C=O 的特征吸收峰,分别对应于纯氟尿苷红



Floxuridine, (2) S1; (3) S2; (4) S3; (5) LDHs

图 2 氟尿苷、LDHs 和氟尿苷-LDHs 纳米杂化物的红外光谱图

Fig.2 IR spectra of Floxuridine, LDHs and Floxuridine-LDHs samples

外谱图(曲线 1)中 1720 和 1677 cm^{-1} 的吸收峰。吸收峰位置的移动是由于与 LDHs 红外吸收谱 (曲线 5)中 1618 cm^{-1} 处吸收峰的叠加所致。纳米杂化物位于 1100~1300 cm^{-1} 区间内的吸收峰与纯氟尿苷的吸收峰基本一致,杂化物在 998 和 1047 cm^{-1} 处的吸收峰受 LDHs 在此处红外吸收的影响移动到 1053 和 1095 cm^{-1} 处。

氟尿苷的分子结构式与三维结构如图 3(a)和 3(b)所示,采用 Gauss 98 程序 B3LYP/6-31G 密度泛函法优化法计算的分子长度、宽度及厚度分别为 0.88、0.53 和 0.46 nm。依据分子大小和 LDHs 通道高度推测,氟尿苷分子是以长轴垂直或略倾斜于 LDHs 层片在 LDHs 层间成双层排列,如图 3(c)所示。

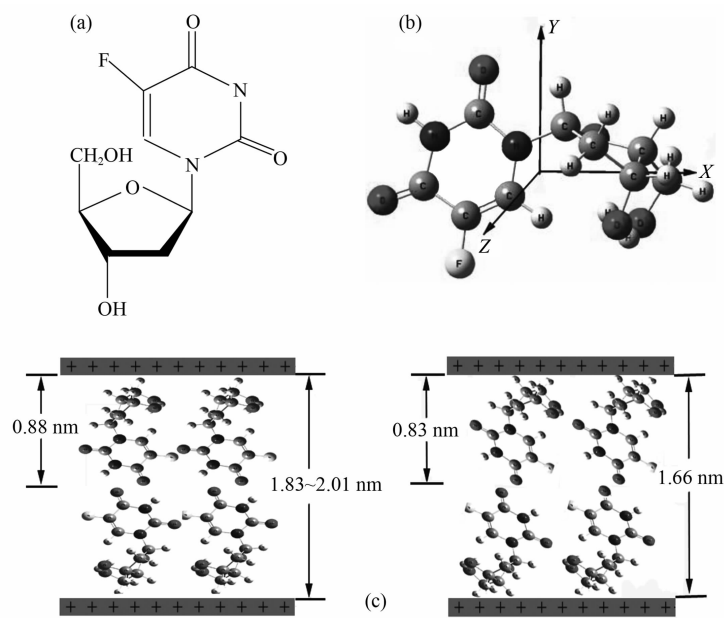


图3 氟尿苷的结构式(a)、三维结构(b)及其在 LDHs 层间排布示意图(c)

Fig.3 Structural formula (a), three-dimensional molecular profile (b) and schematic arrangement of Floxuridine in LDHs (c)

2.2 药物释放动力学

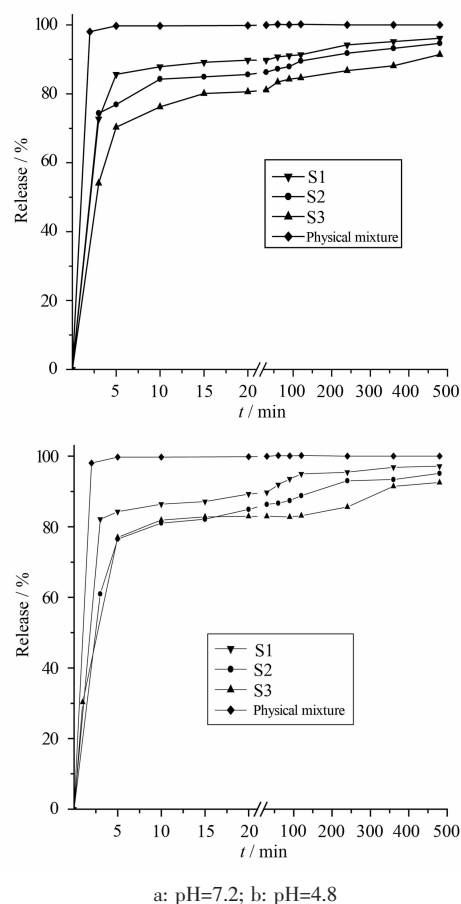
图4是氟尿苷-LDHs纳米杂化物在pH=4.8和7.2的缓冲溶液中的释放动力学曲线,作为对比,将氟尿苷和LDHs物理混合物的释放动力学曲线也绘于其中。氟尿苷与LDHs物理混合物的药物释放非常快,大约3 min内基本完全释放,氟尿苷-LDHs纳米杂化物的释放明显变缓。纳米杂化物的整个释放过程可分为两阶段:第一阶段释放较快,前10 min释放率基本达到80%左右;随后进入第二阶段,即缓慢释放阶段,经过500 min的释放,药物释放率也仅达95%左右,这与插入LDHs层间的氟尿苷分子在层间扩散受限有关^[13]。另外,氟尿苷与LDHs间存在氢键,氢键区厚度约为 0.27 ± 0.1 nm^[14],这也是纳米杂化物药物释放缓慢的重要原因之一。由图4还可看出, A_{kl} 越高,药物释放越慢。比较氟尿苷-LDHs纳米杂化物在pH=4.8及7.2缓冲溶液中的释放行为,发现受介质pH值的影响不大。

通常,药物释放动力学可用准一级或准二级动力学方程描述。

准一级释放动力学方程为: $\ln(1-X_t) = -k_1 t$

准二级释放动力学方程为: $\frac{t}{X_t} = \frac{1}{k_2 q_e} + t$

其中, X_t 是 t 时刻的释放率, q_e 为平衡释放量, $k_1(\text{min}^{-1})$ 和 $k_2(\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{g})$ 分别为准一级和准二级释放动力学常数。如果释放数据符合准一级方程时,



a: pH=7.2; b: pH=4.8

图4 氟尿苷-LDHs纳米杂化物的药物释放动力学曲线

Fig.4 Release profiles of Floxuridine-LDHs samples

$\ln(1-X_t)$ 与 t 呈线性关系;如果释放数据符合准二级方程时, t/X_t 与 t 呈线性关系。分别采用准一级和准二级释放动力学方程对实验数据进行拟合,结果表明氟尿苷分子从纳米杂化物中的释放过程符合准二级动力学方程,拟合曲线如图5所示,线性相关系数(R^2)均高于0.999,由拟合直线所得到的系数 k_2 值列于表2中。pH=4.8时,样品S1、S2和S3的 k_2 值分别为0.44、0.27和0.24 $\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{g}$;而在pH=7.2时,分别为0.41、0.31和0.23 $\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{g}$ 。 k_2 值随载药

量增大而减小,而与pH值基本无关。

3 结 论

采用共沉淀法将抗癌药物氟尿苷插入 Mg-Al-LDHs 的层间,合成了氟尿苷-LDHs 杂化物。依据分子大小和 LDHs 通道高度推测,氟尿苷分子是以长轴垂直或略倾斜于 LDHs 层片在 LDHs 层间呈双层排列。药物释放研究表明,氟尿苷-LDHs 纳米杂化物具有明显的缓释效果,表明是有发展潜力的新型药物控释体系。纳米杂化物的药物释放速率随载药量增大而降低,而与介质 pH 值基本无关;释放动力学符合准二级动力学过程。

参考文献:

- [1] Lisa B P. *Int. Pharm.*, **1995**,**116**:1~9
- [2] Choy J H, Kwak S Y, Park J S, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**,**121**:1399~1400
- [3] Xu Z P, Zeng Q H, Lu G H, et al. *Chem. Eng. Sci.*, **2006**, **61**:1027~1040
- [4] Choy J H, Jung J S, Oh J M, et al. *Biomaterials*, **2004**,**25**: 3059~3064
- [5] Gordiajo C R, Barbosa C A S, Ferreira A M D C, et al. *J. Pharm Sci.*, **2005**,**94**(5):1135~1148
- [6] Wang Z L, Wang E B, Gao L, et al. *J. Solid State Chem.*, **2005**,**178**:736~741
- [7] Li B X, Evans D G, Duan X. *Appl. Clay Sci.*, **2004**,**27**: 199~207
- [8] Ambrogi V, Fardella G, Grandolini G, et al. *AAPS PharmSciTec*, **2002**,**3**(3):article 26(1~4)
- [9] Hou W G, Jin Z L. *Colloid Polym. Sci.*, **2007**,**285**:1449~1454
- [10] Tyner K M, Schiffman S R, Gianelis E P. *J. Control. Release*, **2004**,**95**:501~514
- [11] Trikeriotis M, Ghanotakis D F. *Int. J. Pharm.*, **2007**,**332**: 176~184
- [12] Canavi F, Trifiro C, Vaccari A. *Catal. Today*, **1991**,**11**:173~301
- [13] Ambrogi V, Fardella G, Grandolini G, et al. *Int. J. Pharm.*, **2001**,**220**:23~32
- [14] DUAN Xue(段 雪), ZHANG Fa-Zhi(张法智). *Intercalation Assembly and Function Materials*(插层组装与功能材料). Beijing: Chemical Industry Press, **2007**.48~51

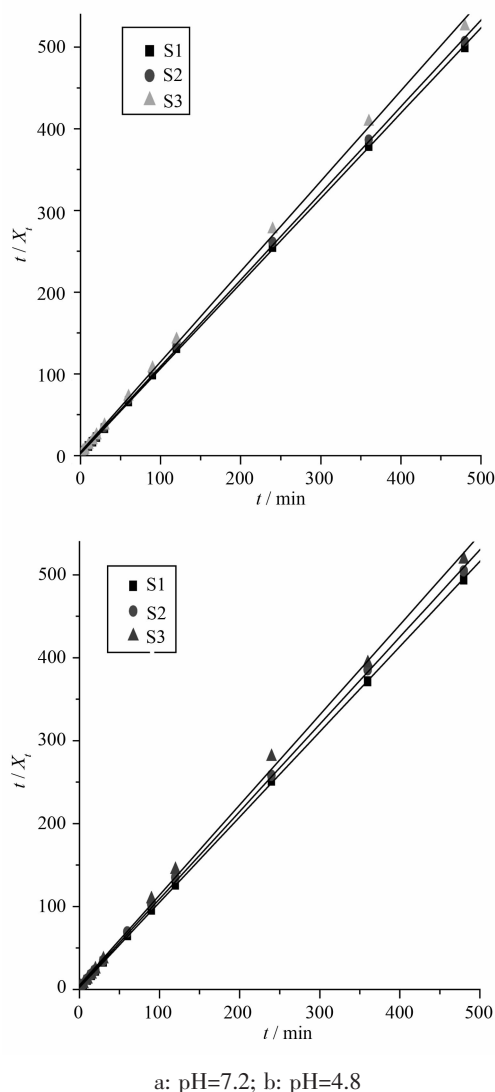


图5 氟尿苷-LDHs 纳米杂化物准二级释放动力学拟合曲线

Fig.5 Linear regression curves of release data fitting with pseudo-second kinetic model for Floxuridine-LDHs