

多壁碳纳米管-聚乙二醇复合材料 缓释氧氟沙星

李三清¹, 刘耀驰², 于金刚²

1. 解放军第 425 医院感染科, 海南三亚 572000
2. 中南大学化学化工学院, 长沙 410083

摘要 作为第 3 代氟喹诺酮类合成抗菌药, 氧氟沙星的抗菌谱广、抗菌活性强、口服吸收完全、体内分布广、生物利用度高。但氧氟沙星有效抑菌浓度低, 对多数致病菌的 MIC_{90} 在 $1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内, 因此制备更为安全有效的氧氟沙星缓释制剂十分必要。本文采用微波辅助硝酸氧化法修饰了多壁碳纳米管引入羧基, 制备了氧化多壁碳纳米管。在对甲苯磺酸催化下, 以聚乙二醇修饰了氧化多壁碳纳米管, 制备了分散性能较好的多壁碳纳米管-聚乙二醇复合材料。以多壁碳纳米管-聚乙二醇复合材料为药物载体、氧氟沙星为模型药物, 考查了多壁碳纳米管-聚乙二醇复合材料的载药释药性能。研究表明: 多壁碳纳米管-聚乙二醇复合材料具有较大的载药率, 达 92.8%; 在磷酸缓冲溶液 ($\text{pH}=7.4$) 中, 24h 内可持续稳定缓慢释放氧氟沙星。

关键词 多壁碳纳米管; 聚乙二醇; 功能化; 氧氟沙星; 缓释

中图分类号 TB332

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2013.09.002

Functionalization of Multi-walled Carbon Nanotubes for Sustained-releasing Ofloxacin

LI Sanqing¹, LIU Yaochi², YU Jingang²

1. Infectious Diseases Department, The PLA 425 Hospital, Sanya 572000, Hainan Province, China
2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China

Abstract As the third generation of synthetic fluoroquinolone antibacterials, the ofloxacin is a potent antifungal agent with a broad antifungal spectrum, a strong antibacterial activity, the ability of completely oral absorption, a wide distribution in tissue and a high bioavailability. By using the nitric acid to treat multi-walled carbon nanotubes (MWNTs) under the microwave irradiation, the carboxyl groups were introduced onto the MWNTs and the oxidized MWNTs (MWNTs-COOH) were prepared. Catalized by the p-toluenesulfonic acid, the poly(ethylene glycol) modified MWNTs (PEG-g-MWNTs) with good dispersivity were synthesized. The PEG-g-MWNTs composites were used as the drug delivery for drug loading/releasing of the ofloxacin. It is indicated that the PEG-g-MWNTs has a great load rate (92.8%) for the ofloxacin, which can be sustained, controlled and released in the phosphate buffer solution ($\text{pH}=7.4$) in 24h.

Keywords multi-walled carbon nanotubes; poly(ethylene glycol); functionalization; ofloxacin; sustained-releasing

0 引言

在常规给药方式下, 人体内血药物浓度只能维持较短时间, 且随着时间的延长上下波动较大。如果一次给药超过病人的药物最高耐受剂量或低于有效剂量, 不但起不到应有的

疗效, 还可能产生毒副作用。临床采用的频繁小剂量给药在一定程度上可调节血药浓度, 但常常使患者难以接受, 实施起来困难较多。因此, 在药物领域中, 开发可缓慢释放药物的载体材料有极大的现实意义, 多种缓释材料如聚碳酸酯、藻

收稿日期: 2013-01-05; 修回日期: 2013-02-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(21201181); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(新教师类)项目(20110162120070)

作者简介: 李三清, 主治医师, 研究方向为临床医学感染控制, 电子信箱: lisanqing425@163.com; 于金刚(通信作者), 副教授, 研究方向为纳米复合材料制备及其应用领域, 电子信箱: yujg_zhoufl@yahoo.com

脲酸盐、壳聚糖、聚乙二醇等被用作缓释材料。此外,新型纳米材料也具有良好的药物缓释作用。

碳纳米管(Carbon Nanotubes, CNTs)是1991年发现的一种新型一维碳材料,具有直径为纳米级(2~80nm)、长度达微米级、典型的层状中空结构^[1]。由于碳纳米管具有中空结构和较大比表面积,可装载/吸附不同分子量大小的、从小分子到蛋白质等多种物质^[2]。此外,碳纳米管轴向直径为纳米级,可进入细胞核内,从而携带的药物或生物活性大分子也随其进入细胞核,发挥最大药效^[3,4]。近年来,将碳纳米管作为药物传递系统的载体被广泛关注^[5]。

但是,碳纳米管不溶于水及任何一种有机溶剂,因此碳纳米管的分散成为其应用中亟需解决的瓶颈^[6,7]。沿纳米管轴向有较高长径比,且在其管壁及两端存在缺陷,这为利用不同改性基团修饰碳纳米管提供了必要的吸附/功能化位点。共价接枝或非共价包覆极性分子,可有效地改善碳纳米管的分散性能,拓宽其应用领域^[8]。聚乙二醇共价接枝修饰纳米粒子可避免其团聚,从而提高其在水溶液中的分散性能,在药物载体领域吸引了越来越多的关注^[9]。此外,聚乙二醇共价接枝的碳纳米管被证明对动物或细胞基本无毒性^[10]。采用物理法将聚乙二醇接枝的单壁碳纳米管(PEG-g-SWNTs)或多壁碳纳米管(PEG-g-MWNTs)浸渍于饱和的紫杉醇(paclitaxel, PTX)溶液中,发现其负载容量(loading capacity)分别达26%(质量分数)和36%(质量分数),说明多壁碳纳米管较大的内空腔有利于装载更多的药物^[11]。将缓释材料壳聚糖修饰的碳纳米管复合材料用于包埋/释放甲磺酸帕珠沙星,研究表明此类复合材料具有良好的药物缓释性能^[12]。

作为药物载体材料,聚乙二醇具有比壳聚糖更好的水溶性。为了得到生物相容性更好、缓释性能优异的药物载体,本文研究制备了分散性能较好的聚乙二醇接枝的多壁碳纳米管(PEG-g-MWNTs)复合材料,并以氧氟沙星为模型药物,考查了碳纳米管-聚乙二醇复合材料作为药物载体的载药/释药性能。

1 实验

1.1 试剂及仪器

多壁碳纳米管(MWNTs;纯度≥95%,长度5~15μm,直径10~20nm;深圳纳米港有限公司);聚乙二醇($M_w=400$;温州清明化工有限公司);氧氟沙星(江西东旭化工科技有限公司);对甲苯磺酸(AR级;阿拉丁试剂);其他试剂均为分析纯。

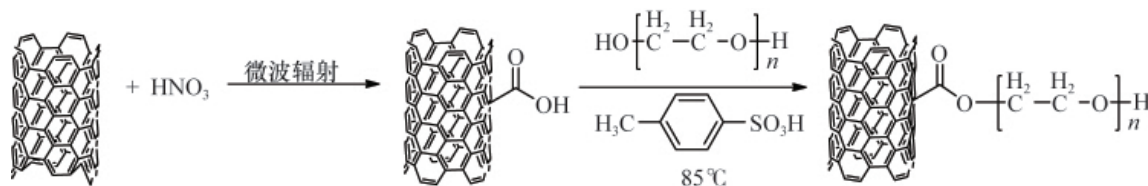


图2 碳纳米管-聚乙二醇复合材料的制备

Fig. 2 Preparation of poly(ethylene glycol) modified multi-walled carbon nanotubes

UV-2600型双光束紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司);JEOL JSM-6360LV型扫描电镜(Scanning Electron Microscopy, SEM;日本电子株式会社;操作电压20~25kV);1810D型自动双重纯水蒸馏器(上海申生科技有限公司);TGL-16G台式高速离心机(湖南星科科学仪器有限公司);KQ-50DE型数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HZQ-C空气浴恒温振荡器(哈尔滨市东明医疗仪器厂);MCR-3型微波化学反应器(上海杰思生物科技有限公司)。

1.2 氧氟沙星溶液的配制

氧氟沙星(商品名为泰利必妥)是日本于1982年开发的具有广谱抗菌活性的新型喹诺酮类药物,是公认的喹诺酮类药物中较为优秀的品种,其结构式如图1所示。在500mL容量瓶中加入干燥至恒重的100.0mg氧氟沙星,用二次重蒸水溶解后定容至刻度配制成浓度为200.0mg/L的储备液,室温放置。取少量储备液于200~500nm波长范围内进行紫外扫描,确定最大吸收波长为287nm。因此选择287nm作为其测定波长。

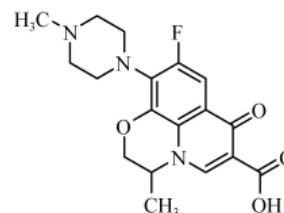


图1 氧氟沙星的化学结构示意图

Fig. 1 Chemical structure of ofloxacin

1.3 多壁碳纳米管-聚乙二醇(PEG-g-MWNTs)的制备

单口圆底烧瓶中加入20mL HNO_3 、300mg MWNTs,超声分散30min后转入微波炉内,中档功率的微波辐射下反应30min。反应液冷却至室温后,加二次蒸馏水稀释后抽滤,用二次蒸馏水反复洗涤滤饼至滤液为中性。压干滤饼,将所得黑色固体于80°C下真空干燥48h,得氧化多壁碳纳米管(MWNT-COOH)^[12]。

单口圆底烧瓶中加入220mg MWNT-COOH、100mg对甲苯磺酸、2g PEG-400、40mL二甲基甲酰胺(DMF),超声分散1h后,油浴加热至85°C下保温反应4d。反应结束后,离心,小心分除上清液,残留固体用二次蒸馏水洗涤至滤液为中性。滤饼转移入真空干燥器中,80°C下干燥48h,得聚乙二醇接枝的多壁碳纳米管复合材料(PEG-g-MWNTs)。制备路线如图2所示。

1.4 氧氟沙星溶液标准曲线

氧氟沙星原料药干燥至恒重,精密称量 25.00mg 于 250mL 的容量瓶中,加入磷酸盐缓冲溶液 (PBS, pH=7.4) 溶解,再用磷酸盐缓冲溶液稀释至刻度得到测试液。先取少量试样在 200~400nm 波长范围内扫描,扫描曲线图(图 3)显示,氧氟沙星在波长为 288nm 处有最强吸收,因此选择 288nm 作为测定波长。

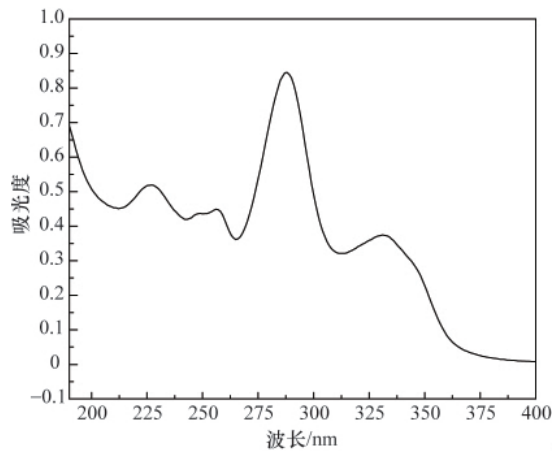


图 3 磷酸盐缓冲溶液 (pH=7.4) 中氧氟沙星的紫外吸收光谱
Fig. 3 Ultraviolet absorption spectra curve of ofloxacin in phosphate buffer solution (pH=7.4)

用紫外-可见分光光度计在 288nm 波长处测试不同浓度下的氧氟沙星标准液的吸光度 A 。以氧氟沙星的质量浓度 $C_{\text{氧氟沙星}}$ 和其相应吸光度绘制曲线后,线性回归可得标准曲线图(图 4),该曲线符合以下方程

$$A=0.02037+0.07582 \cdot C_{\text{氧氟沙星}} \quad R=0.99995 \quad (1)$$

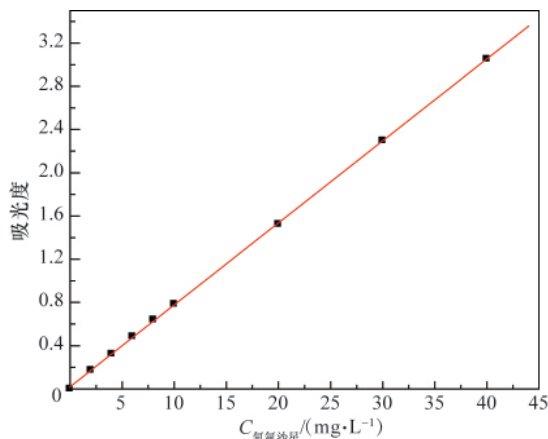


图 4 磷酸盐缓冲溶液 (pH=7.4) 中氧氟沙星质量浓度与紫外吸光度标准曲线
Fig. 4 Standard curve of ofloxacin UV absorbency-concentration in phosphate buffer solution (pH=7.4)

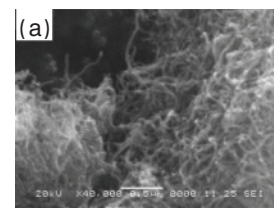
1.5 载药/释药性能测定

采用浸泡法,将一定量干燥至恒重的 PEG-g-MWNTs 浸泡在 200.0mg/L 的氧氟沙星水溶液中 2d。混合物经离心后,取上清液用紫外-可见光谱仪测定其吸光度,根据标准曲线求得上清液的氧氟沙星浓度,并求出 PEG-g-MWNTs 的载药量,载药量与干燥至恒重的 PEG-g-MWNTs 的质量比值即为载药率。

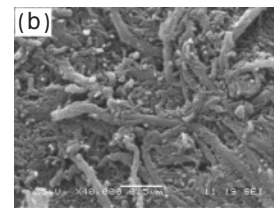
2 结果与讨论

2.1 PEG-g-MWNTs 的表征

扫描电镜 (SEM) 分析可清晰呈现碳纳米管修饰前后的形貌改变。采用 SEM 分析多壁碳纳米管样品的结果如图 5 所示。从图 5(a) 可以看出,原始 MWNTs 表面光滑无附着物,而修饰之后的 PEG-g-MWNTs 表面以及管与管之间覆盖了一层附着物, MWNTs 管径也变大增粗且变得粗糙,这是接枝 PEG 所致使的(图 5(b))。



(a) 原始多壁碳纳米管
(a) Pristine MWNTs



(b) 聚乙二醇接枝多壁碳纳米管
(b) PEG-g-MWNTs

图 5 多壁碳纳米管扫描电镜图
Fig. 5 SEM photos of MWNT samples

PEG-g-MWNTs 的红外光谱图如图 6 所示。从图 6 中可以

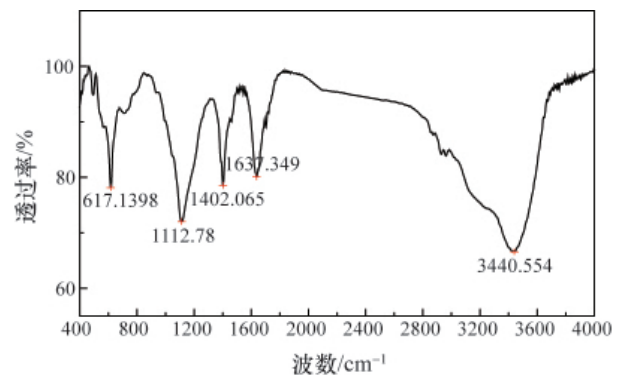


图 6 聚乙二醇接枝多壁碳纳米管红外光谱
Fig. 6 FT-IR spectrum of PEG-g-MWNTs

看出,碳纳米管接枝聚乙二醇(PEG)后,在 1637.349cm^{-1} 处出现了酯基的特征吸收峰,在 2927.71 和 2852.66cm^{-1} 处出现 C—H 伸缩振动吸收峰,且在 1112.78cm^{-1} 处出现 C—O—C 键的吸收峰。因为实验过程中,多次反复的洗涤操作彻底除去了未接枝的 PEG,可以认为 MWNTs 上成功接枝了 PEG。

2.2 PEG-g-MWNTs 对氧氟沙星的包埋与释放

以不同质量浓度氧氟沙星溶液考查 PEG-g-MWNTs 对药物的吸附与解吸附平衡,得出载药率如表 1 所示,可以看出 PEG-g-MWNTs 的载药量很大。当氧氟沙星溶液质量浓度为 $100.0\sim 500.0\text{mg/L}$ 时,平均载药率约为 92.8%。较大的载药率与 MWNTs 的高比表面积、表面修饰引入极性官能团羧基—COOH 以及聚合物 PEG 有关。

表 1 不同质量浓度氧氟沙星溶液下的 PEG-g-MWNTs 载药率

Table 1 Loading ratios of PEG-g-MWNTs in ofloxacin solutions with different concentrations

C _{氧氟沙星} /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	载药率/%
100.0	86.7
200.0	96.4
300.0	95.3
400.0	94.1
500.0	91.3

研究了载药 PEG-g-MWNTs 在 37°C 、 $\text{pH}=7.4$ 缓冲溶液中的氧氟沙星累计释放量与时间关系如图 7 所示。从图中可明显看出,氧氟沙星释放率随浸渍时间延长而增大,24h 后释放速率有所减慢并停止释放。初始(12h 内)的释药率大,原因是 PEG-g-MWNTs 载药时存在表面吸附,将其置于缓冲溶液中,

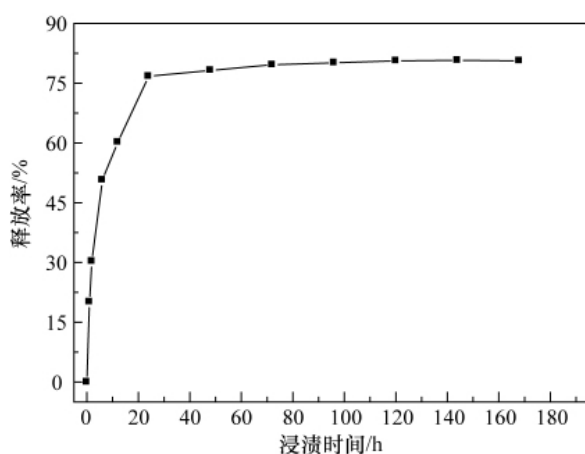


图 7 PEG-g-MWNTs 对氧氟沙星的释放曲线 (37°C , $\text{pH}=7.4$)

Fig. 7 Curve of the releasing ratio of ofloxacin from PEG-g-MWNTs (37°C , $\text{pH}=7.4$)

由于显著浓度差,药物易从 PEG-g-MWNTs 上脱离,发生自由扩散而“暴释”。长达 24h 的长时间稳定释放说明 PEG-g-MWNTs 包埋药物可有效实现氧氟沙星的缓释。

3 结论

以氧氟沙星为模型药物,考查了聚乙二醇接枝多壁碳纳米管的载药/释药性能。研究表明,此类新型复合材料结合了碳纳米管与聚乙二醇的优点,使得其具有较好的分散性能、较大的载药率(达 92.8%)、良好的药物缓释性能(24h 左右停止释放)。可以预见,基于碳纳米管的复合材料将会在药物载体领域特别是缓释领域获得一席之地。

参考文献 (References)

- [1] Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon [J]. *Nature*, 1991, 354(6348): 56–58.
- [2] Bianco A. Carbon nanotubes for the delivery of therapeutic molecules[J]. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2004, 1(1): 57–65.
- [3] Lay C L, Liu J, Liu Y. Functionalized carbon nanotubes for anticancer drug delivery[J]. *Expert Review of Medical Devices*, 2011, 8(5): 561–566.
- [4] Adeli M, Hakimpoor F, Ashiri M, et al. Anticancer drug delivery systems based on noncovalent interactions between carbon nanotubes and linear-dendritic copolymers[J]. *Soft Matter*, 2011, 7(8): 4062–4070.
- [5] Pastorin G. Crucial functionalizations of carbon nanotubes for improved drug delivery: A valuable option?[J]. *Pharmaceutical Research*, 2009, 26(4): 746–769.
- [6] Pietronave S, Iafisco M, Locarno D, et al. Functionalized nanomaterials for diagnosis and therapy of cancer [J]. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*, 2009, 7(2): 77–89.
- [7] Liu Z, Chen K, Davis C, et al. Drug delivery with carbon nanotubes for in vivo cancer treatment[J]. *Cancer Research*, 2008, 68(16): 6652–6660.
- [8] Heister E, Lamprecht C, Neves V, et al. Higher dispersion efficacy of functionalized carbon nanotubes in chemical and Biological Environments[J]. *ACS Nano*, 2010, 4(5): 2615–2626.
- [9] Karakoti A S, Das S, Thevuthasan S, et al. PEGylated Inorganic Nanoparticles[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2011, 50(9): 1980–1994.
- [10] Bhirde A A, Patel S, Sousa A A, et al. Distribution and clearance of PEG-single-walled carbon nanotube cancer drug delivery vehicles in mice[J]. *Nanomedicine*, 2010, 5(10): 1535–1546.
- [11] Lay C L, Liu H Q, Tan H R, et al. Delivery of paclitaxel by physically loading onto poly (ethylene glycol) (PEG)-graft-carbon nanotubes for potent cancer therapeutics [J]. *Nanotechnology*, 2010, 21(6): 065101.
- [12] 于金刚, 黄可龙, 唐金春. 载药(甲磺酸帕珠沙星)水凝胶的制备及其药物缓释性能[J]. *合成化学*, 2011, 19(2): 166–169.
Yu Jingang, Huang Kelong, Tang Jinchun. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2011, 19(2): 166–169.

(责任编辑 吴晓丽)