

氧化石墨烯负载阿莫西林的研究

吴丁威^{1,2} 温 静^{1,2} 郭睿劼^{1,2*}

(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,太原 030024;

2.太原理工大学材料科学与工程学院,太原 030024)

摘 要 主要研究了氧化石墨烯(GO)对阿莫西林(AML)的负载情况。通过超声、振荡、离心和干燥等手段来制备 GO-AML 复合物,采用傅里叶变换红外光谱和紫外-可见分光光谱等手段对 GO-AML 复合物进行结构表征。还对不同 pH 的缓冲溶液中 GO 对 AML 的负载情况进行了控释研究。结果表明:GO 与阿莫西林以氢键方式结合;在中性条件下负载量大,且在酸性条件下实行效果好。

关键词 纳米氧化石墨烯,阿莫西林,药物控释

Study on the immobilization of amoxicillin in graphene oxide

Wu Dingwei^{1,2} Wen Jing^{1,2} Guo Ruijie^{1,2}

(1.Key Laboratory of Interface Science and Engineering in Advanced Materials Ministry of Education,Taiyuan University of Technology,Taiyuan 030024;2.College of Materials Science and Engineering,Taiyuan University of Technology,Taiyuan 030024)

Abstract Graphene oxide (GO) was used to study the loading of amoxicillin (AML). Graphene oxide-amoxicillin (GO-AML) composites were prepared by ultrasonic, vibration, centrifugation and drying. The structure of GO-AML was characterized by FT-IR and UV-Vis. The loading and controlled release of amoxicillin by graphene oxide in different pH buffer solutions were also studied. The results showed that graphene oxide and amoxicillin were combined by hydrogen bonding. Under neutral conditions, the loading was large, and the effect was good under acidic conditions.

Key words nano graphene oxide, amoxicillin, controlled release of drug

随着现代医学和纳米技术逐步发展,纳米技术与生物医学相结合在治疗人类疾病方面提供了新的模式,简单来说就是将药物负载到纳米粒子上进行药物的传送。由于纳米粒子独有的特性使其作为纳米生物中的药物载体有重要意义和应用价值。作为纳米载药体系,纳米粒子必须具有良好的生物相容性、低毒性,这些使其成为载药体系中最为活跃的一种,这也是能成为载体的必备要求。纳米载体材料主要具有以下优点^[1-3]:(1)靶向输送;(2)提高药物稳定性;(3)缓慢控释药物,延长药物作用时间;(4)增强对药物的吸收和利用率;(5)降低细胞毒性。

石墨烯是由碳原子以 sp² 杂化连接的单原子层构成的新型二维原子晶体,其基本结构单元为有机材料中最稳定的苯六元环,其理论厚度仅为

0.35nm,是目前所发现的最薄的二维材料^[4]。石墨烯独特的单原子层结构赋予了其独特的电子与物理性质,可能在高性能电子器件^[5-7]、微纳米器件^[8-9]和场发射材料^[10-11]等领域得到广泛应用。由于单原子纳米尺寸的结构、纳米效应、巨大的比表面积、很好的生物相容性和长时间的体内循环,很适合作为药物的载体,且相比其他纳米粒子载体具有很高的负载率,从而使其在纳米药物载体领域拥有极大的潜能,如今已成为生物医学等领域的研究热点^[12-13]。石墨烯经过氧化成为氧化石墨烯(GO),仍然保持着石墨烯片层的结构,但在 GO 上下基面含有大量的—OH、C—O—C,边缘含有大量的 C=O、—COOH^[14],这些基团使其亲水性加强,也易于被修饰功能化。2008 年,Dai 课题组^[15]利用聚乙二醇

基金项目:山西省自然科学基金(2012021008-4 和 2014021020-3)

作者简介:吴丁威(1992-),男,硕士研究生,主要研究方向为生物材料。

联系人:郭睿劼,女,博士,副教授,主要研究方向为生物材料和表面改性。

功能化的氧化石墨烯(GO-PEG)复合材料首次将抗肿瘤药物喜树碱衍生物(难溶性芳香分子 SN38)负载到 GO 表面,从而掀起了研究 GO 在载药方面应用的热潮。他们成功合成的 GO-PEG 具有良好的水溶性和生物相容性,且在人体液中有很好的分散性;再经过本身的 π - π 堆积和疏水性能等作用将 SN38 吸附在 PEG 接枝的还原石墨烯(NGO)表面,形成 NGO/PEG-SN38 复合物。张龙蛟等^[16]制备了叶酸功能化的 GO 复合材料,并负载阿霉素(FA-GO-DOX)。通过对功能化的氧化石墨烯(FA-GO-DOX)载药系统的性能测试发现该材料具有很好的生物相容性,安全性高,具有很好的应用前景。

本研究主要是制备 GO-阿莫西林(GO-AML)复合物,并通过红外光谱分析 AML 在 GO 的负载方式,紫外分析测定 AML 的标准曲线,并研究了不同实验条件对 GO 负载能力的影响。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

氧化石墨烯溶液(GO,浓度 2mg/mL),中国科学院山西煤炭化学研究所;去离子(H_2O ,分析纯),自制;氢氧化钠(NaOH, $\geq 96.0\%$,分析纯),天津市进丰化工有限公司;磷酸二氢钾(KH_2PO_4 , $\geq 99.5\%$,分析纯),天津市风船化学试剂科技有限公司;阿莫西林胶囊(AML),重庆赛普那斯科技有限公司。

高功率超声波清洗器(KQ-50B 型),昆山市超声仪器有限公司;水浴恒温振荡器(SHZ-B 型),上海博讯实业有限公司医疗设备厂;高速冷冻离心机(HC-3018R 型),安徽中科中佳科学仪器有限公司;冷冻干燥机(SCIENTZ-12N 型),宁波新芝生物科技股份有限公司;移液枪(YE4A259948 型),宁波新芝生物科技股份有限公司;电子天平(LE204E/02 型),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR, Nicolet710 型),德国布鲁克公司;紫外-可见分光光谱仪(UV-Vis, UV-1800 型),日本岛津公司。

1.2 氧化石墨烯-阿莫西林复合物(GO-AML)的制备

首先移取一定体积和浓度的 GO 水溶液和 25mL 1×10^{-4} mol/L AML 溶液,再移取体积为 10mL pH=7.6 的 NaOH- KH_2PO_4 缓冲溶液(PBS 溶液),加水定容至 60mL,先在室温下进行超声,摇

床振荡一段时间后并以 8000r/min 离心,去除上清液,洗涤一至两次后将离心后的沉淀于 60℃ 干燥箱中真空干燥,获得 GO-AML。

1.3 性能测试与表征

采用 FT-IR 对试样进行表征;药物负载量主要通过摇床上振荡一段时间,离心,取其上清液在 UV-Vis 中测其在 272nm 处的吸收峰,并通过标准曲线来计算 AML 溶液浓度,再依据式(1)计算负载量;取某一浓度的 GO-AML 分成 3 份,经过透析袋分别放入一定的模拟人体肠液 pH=1.2 和人体胃液 pH=7.6 的 PBS 溶液中,并放于小摇床上振荡,每隔一定时间取一定缓释液测其在 272nm 处的吸光值,累计释放量按式(2)计算。

$$\text{负载量}(\text{mg/g}) = \frac{\text{AML 总质量} - \text{AML 自由质量}}{\text{GO 的质量}} \quad (1)$$

$$\text{累积缓释率} / \% = \frac{V_1 \cdot C_1 + V_2 \cdot \sum_{i=1}^{n-1} C_{i-1}}{m} \times 100\% \quad (2)$$

式中, V_1 为缓释介质(pH=7.6 和 1.2 的 PBS 溶液)的总体积,mL; V_2 为每次取样、补加 PBS 的体积,3mL; C_i 为第 i 次测得的缓释药物在缓释介质中的浓度,mol/L; m 为 GO 负载药物的质量,mg。

2 结果与讨论

2.1 FT-IR 分析

GO、AML 和 GO-AML 的 FT-IR 谱图见图 1。由图可知,在 GO 的 FT-IR 谱图中,3434 cm^{-1} 处为 O—H 的伸缩振动峰,1721 cm^{-1} 为 —COOH 中 C=O 的伸缩振动峰,1630 cm^{-1} 为 C=C 伸缩振动峰。在 AML 的 FT-IR 谱图中,3440 cm^{-1} 为 O—H 的伸缩振动峰,3030 和 2981 cm^{-1} 均为 AML 的 C—H 伸缩振动峰,1729 cm^{-1} 处为 AML 上 C=O 的伸缩振动峰,1632~1010 cm^{-1} 处为苯环及其他一些官能团的吸收峰;在 GO-AML 的 FT-IR 谱图中,1621~1010 cm^{-1} 处为 AML 的吸收峰,由此可以确定复合物中含有 AML。同时还看出 O—H 峰和 C=O 峰

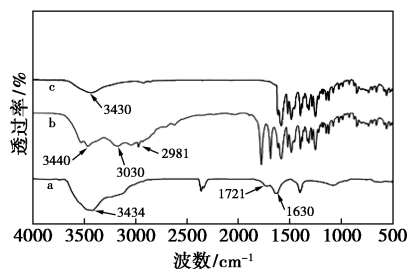


图 1 GO(a)、AML(b)和 GO-AML(c)的 FT-IR 谱图

都发生明显的偏移,由此可以确定复合物以分子氢键相结合。

2.2 UV-Vis 分析

GO 和 AML 的 UV-Vis 谱图见图 2。由图可知,由于 GO 芳香环上 C—C 的 $\pi-\pi^*$ 跃迁使其在 230nm 处产生最大吸收峰。另外,AML 分别在 229 和 272nm 处有两个主要的吸收峰,由于 GO 在 230nm 波长处有明显吸收峰,为避免以后测试干扰,故选择在 272nm 处的紫外吸收作为 GO 负载 AML 的检测波长。

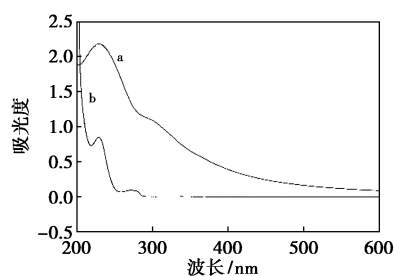


图2 GO(a)和 AML(b)的 UV-Vis 谱图

2.3 AML 溶液的标准曲线

利用软件进行线性模拟计算得到 AML 溶液的线性回归方程和标准曲线方程,结果见图 3。其中 AML 溶液的线性回归方程为: $A = 0.01656C(R^2 = 0.99995) + 0.001333$ 。

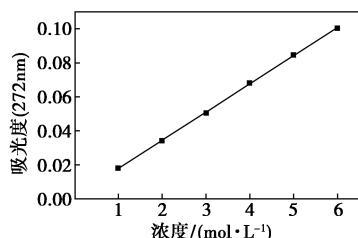


图3 AML 溶液的标准曲线图

由图可知, $R^2 = 0.99995$,吸光度与药物浓度呈很好的线性相关。

2.4 pH 对 GO-AML 释放性能和负载性能的影响

采用一定功率和转速较小的小摇床进行透析来

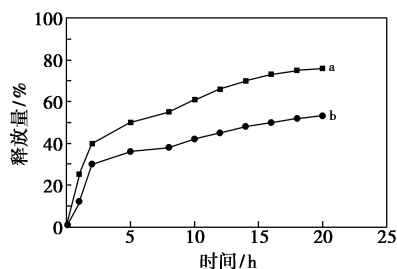


图4 GO-AML 在 pH=1.2(a)和 pH=7.6(b)的 PBS 溶液中对 AML 释放量的变化情况图

缓释,将 GO-AML 在不同 pH 的 PBS 溶液中进行缓释。不同 pH 下 GO-AML 对 AML 释放量随着时间的变化情况见图 4。由图可知,随着时间延长,AML 释放量越来越大,但释放速率逐渐变慢,基本在 20h 后达到饱和和平衡。在 pH=1.2 时,AML 释放量明显很大且高达 73%;而在 pH=7.6 时,AML 释放量只有 49%。因此,在酸性条件下,AML 在复合物上可以更好地释放。

pH 对 GO-AML 负载量的影响见图 5。由图可知,随 pH 增大,即酸性减弱,AML 负载量越来越大,当 pH=7.6 时,AML 负载量达到最大值,之后磷酸盐缓冲液呈碱性时,AML 负载量又减弱。

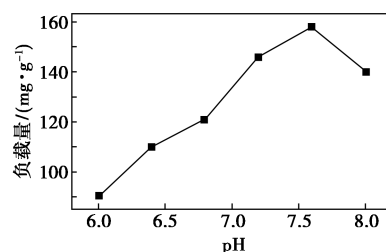


图5 pH 对 GO-AML 负载量的影响

3 结论

AML 应用效果显著,不良反应低,应用范围比较广,因此很有研究意义。本实验发现 AML 与 GO 之间主要通过氢键链接,且在 PBS 溶液 pH=7.6 时具有最大的药物负载量,在 PBS 溶液 pH=1.2 时,AML 在 GO-AML 复合物上具有优异的缓释性能。这更有利于以后 GO 负载药物和在人体内药物释放的研究。

参考文献

- [1] Hu J H, Johnston K P, Williams R O. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs[J]. Drug Dev Industr Pharm, 2004, 30(3): 233-245.
- [2] Lockman P R, Mumper R J, Khan M A, et al. Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier [J]. Drug Dev Industr Pharm, 2002, 28(1): 1-13.
- [3] 逯敏飞,程永清,李丽君,等.被动靶向药物载体的研究进展[J].材料导报,2005,19(9):108-111.
- [4] Novoselov K S, Geim A K, Morozov S V, et al. Room-temperature electric field effect and carrier-type inversion in graphene films[J]. Science, 2004, 306(5696): 666.
- [5] Cohen-Karni T, Qing Q, Li Q, et al. Graphene and nanowire transistors for cellular interfaces and electrical recording[J]. Nano Letters, 2010, 10(3): 1098-1102.

(下转第 248 页)