喜树碱/氧化石墨烯/类水滑石纳米杂化物的制备及表征

兀晓文 杜娜 李海平 张人杰 侯万国*

(山东大学胶体与界面化学教育部重点实验室 济南 250100)

摘要 采用共组装法成功制备了电中性疏水抗癌药物喜树碱(CPT)/氧化石墨烯(GO)/Mg-Al 类水滑石(HTlc)纳米杂化物。先将 CPT 负载于荷负电的 GO 纳米片表面上制备成 CPT/GO 复合物, 再与荷正电的 HTlc 纳米片(HNS)共组装, 形成 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物, 其中 GO 纳米片和 HNS 相间叠加, CPT 负载于层间。采用 X-射线衍射、透射电子显微镜、原子力显微镜、扫描电子显微镜-能量色谱仪、傅里叶变换红外光谱、紫外-可见分光光度计和热重/差示扫描量热分析等技术对纳米杂化物进行了表征。37 °C 下分别在 pH 7.4 和 4.0 的磷酸缓冲液中, 考察了 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的药物释放行为。结果表明, CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的药物释放过程符合准二级动力学方程, 且具 pH 响应性, 在酸性(pH 4.0)介质中的释放速率和释放率明显高于中性(pH 7.4)介质。共组装法是构筑药物/GO/HTlc 纳米杂化物的简便方法, 该纳米杂化物在药物输送领域具有良好的应用前景。

关键词 类水滑石; 氧化石墨烯; 喜树碱; 药物释放; 共组装

Synthesis and Characterization of Camptothecin/Graphene Oxide/Hydrotalcite-like Compounds Nanohybrids

Wu, Xiaowen Du, Na Li, Haiping Zhang, Renjie Hou, Wanguo*

(Key Laboratory of Colloid and Interface Chemistry (Ministry of Education), Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract A nanohybrid of the charge-neutral and poorly water-soluble anticancer drug camptothecin (CPT)/graphene oxide (GO)/Mg-Al hydrotalcite-like compounds (HTlc) was synthesized using a coassembly route. For the coassembly route, CPT molecules were initially loaded on the surface of GO nanosheets; the resulting negatively charged CPT-loaded GO nanosheets and the positively charged HTlc nanosheets were then coassembled together into the layered CPT/GO/HTlc nanohybrid, in which the GO nanosheets and the HTlc nanosheets were alternatively stacked and the CPT molecules were located in its interlayer gallery. The so-obtained nanohybrid was characterized using X-ray diffraction, transmission electron microscope, atomic force microscope, scanning electron microscope-energy dispersive spectrometer, Fourier transform infrared spectrometer, ultraviolet-visible spectrophotometry and thermogravimetric analysis/differential scanning calorimetry technique. The mass ratio of GO to HTlc nanosheets in the nanohybrid was 0.63. The loading amount of CPT on the GO nanosheets was 61.0 mg/g, and that in the nanohybrid was 13.4 mg/g. The *d*-spacing of the CPT/GO composite and the nanohybrid were 0.84 and 1.35 nm, respectively. The *in vitro* release of CPT from the nanohybrid was examined in pH 7.4 and 4.0 phosphate buffer solutions at 37 °C. The results showed that the drug release process could be described with pseudo-second order kinetic model, and exhibited strong pH dependence, namely, the release rate and the percentage release in pH 4.0 buffer were evidently higher than those in pH 7.4 buffer. The pH dependence of CPT release is due to a possible difference in the release mechanism. The CPT release in pH 7.4 buffer was a diffusion-controlled process and the intraparticle diffusion was the rate-limiting step; in pH 4.0 buffer, the dissolution of HTlc layers and the weakening of π - π interaction between CPT and GO also played an important role for CPT release. The maximum percentage releases of CPT from the nanohybrid in pH 7.4 and 4.0 buffers were about 26.8% and 31.1%, respectively, higher than that from CPT/GO composites. The coassembly method is a simple route for building drug/GO/HTlc nanohybrids, and the nanohybrids have potential applications in drug delivery.

Keywords hydrotalcite-like compounds; graphene oxide; camptothecin; drug release; coassembly

1 引言

氧化石墨烯(graphene oxide, GO), 一种具有原子级厚度的二维碳材料^[1,2], 是一类备受关注的新型药物载

体^[3]。GO 具有芳香结构, 故易于负载具芳香结构的疏水性药物如喜树碱及其衍生物^[4,5]、阿霉素^[5-7]、左氧氟沙星^[8]、5-氟尿嘧啶^[9]、冬凌草甲素^[10]和毛萆乙素^[11]等, 可用于构筑药物靶向输送-控释体系。为提高 GO 基药物

* E-mail: wghou@sdu.edu.cn

Received March 4, 2014; published June 3, 2014.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21173135, 21273135) and the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (No. 20110131130008).

项目受国家自然科学基金(Nos. 21173135, 21273135)和高等学校博士学科点专项科研基金(No. 20110131130008)资助。

输送体系的靶向性、伪装隐形能力、药物传递效率及其在体液中的分散稳定性等, 人们已对 GO 进行了大量的表面修饰和功能化研究^[2,3,11]. 已有研究表明, 在 GO 或还原氧化石墨烯(reduced graphene oxide, RGO)表面负载上金^[12]或 Fe_3O_4 ^[9,13]纳米颗粒形成纳米复合物, 可有效提高药物输送效率. Wang 等^[14]将青霉素(BP)插层类水滑石纳米杂化物颗粒与 GO 混合制备成薄膜, 发现与 BP/GO 薄膜相比, 其抗菌效果明显提高. 这些结果表明, 与无机纳米颗粒形成纳米复合物, 是改善 GO 基载体性能的有效途径之一, 但相关研究还很少.

类水滑石(hydrotalcite-like compounds, HTlc), 又称层状双氢氧化物(layered double hydroxides, LDHs), 是一类无机层状材料, 层片带结构正电荷, 层间存在可交换的阴离子, 在药物输送体系中的应用也备受关注^[15~18]. HTlc 可剥离成单片或纳米片(single sheets 或 nanosheets, 以下简称 HNS), 作为组装基元可用于构筑功能材料^[19]. 已有研究报道 HNS 与生物分子^[20~24]或有机大分子^[25,26]共组装, 制备出有机物插层 HTlc 纳米杂化物. 我们前期也采用 HNS 与药物分子共组装, 制备出药物插层 HTlc 纳米杂化物^[27,28].

GO 表面存在多种含氧基团, 如羰基、羟基、环氧基和羧基等, 使其具有良好的亲水性和水分散性, 同时带有负电荷, 可与荷结构正电荷的 HNS 共组装, 形成 GO 片与 HNS 相间叠加的纳米杂化物(或复合物)^[29]. 前期, GO 或 RGO 与 HTlc 纳米颗粒的复合物研究已有一些报道, 主要用于催化剂^[30]、吸附剂^[31]和阻燃剂^[32]等; 而有关 GO/HNS 纳米杂化物的研究还鲜有涉及, 只有 Wang 等^[29]报道将 GO 片与 Co-Al HNS 共组装制备成纳米杂化物, 揭示了在电容器电极材料中的应用前景. 本文以电中性疏水药物喜树碱(CPT)为模型, 探索研究了药物/GO/HNS 纳米杂化物的共组装法制备, 即先将 CPT 负载于 GO 表面制备成 CPT/GO 复合物, 再与 Mg-Al HNS 共组装制备成 CPT/GO/HNS 纳米杂化物, 考察了纳米杂化物的载药和药物释放性能, 以期药物新型载体研制提供依据.

2 结果与讨论

2.1 CPT/GO 复合物制备及表征

以天然鳞片石墨为原料, 采用改进的 Hummers 法合成了 GO^[14], 并超声处理剥离成 GO 纳米片(横向尺寸小于 500 nm)^[4,5,14]. 图 1 为石墨、GO(粉末)和剥离 GO 片(湿态)的 XRD 图. 天然鳞片石墨在 2θ 26.5°处出现一个很尖锐的衍射峰, 归属于(002)晶面衍射, 层间距为 0.34 nm; GO 样品在 2θ 10.6°附近出现衍射峰, 归属于(001)晶面衍射, 层间距增大为 0.84 nm; 剥离 GO 片无明显衍射峰, 表明呈无序单片分散状态. 与石墨相比, GO 的层间距增大, 是氧化过程使其表面产生含氧基团所致. 这些 XRD 结果与文献^[14,33]报道一致.

剥离 GO 纳米片负载 CPT 后, 所形成的复合物的粉末 XRD 图(图 1d)与 GO 基本一致, 表明 CPT 负载未影响 GO 的层间距, CPT 分子可能是平躺在 GO 纳米片表面含氧基团间的疏水区内.

图 1 石墨(a)、GO (b)、剥离 GO (c)和 CPT/GO 复合物(d)的 XRD 图
Figure 1 XRD patterns of (a) graphite, (b) GO, (c) exfoliated GO and (d) CPT/GO composite

图 2 为 CPT/二甲亚砜溶液和 CPT/GO 复合物水分散体系的 UV-vis 谱图, 其中后者扣除了石墨烯背景吸收. 可以看出, CPT 在 356 和 372 nm 处有两个明显的吸收峰, 而 CPT/GO 复合物出现了 CPT 的两个对应吸收峰, 只是分别蓝移至 354 和 370 nm 处, 是 CPT 和 GO 间相互作用所致, 表明 CPT 分子的确负载于 GO 表面上^[4~6]. 采用萃取-分光光度计法测定了 CPT/GO 复合物的载药量(A_C)为 61.0 mg/g, 与文献^[5]报道相近. 另外, 考察了吸附过程中 CPT 浓度(C_{CPT})对载药量(A_C)的影响, 在所考察的浓度范围内, 载药量随 C_{CPT} 的增加而增大, 见图 3.

图 2 CPT/DMSO 溶液(a)和 CPT/GO 水分散体(b)的 UV-vis 谱图
Figure 2 UV-vis spectra of (a) CPT in DMSO and (b) CPT/GO composite in water

图3 CPT平衡浓度对CPT/GO复合体载药量的影响

Figure 3 Effect of the concentration of CPT on loading amount of CPT in CPT/GO composite

图4为GO和CPT/GO复合物的FT-IR谱图. 在制备的GO样品谱图中(图4b), 出现了GO的所有特征吸收峰^[14], 在 3367 cm^{-1} 附近出现的强宽吸收峰归属于羧基和酚基中的羟基伸缩振动, 1723 cm^{-1} 处的强吸收峰归属于羰基($\text{C}=\text{O}$)的伸缩振动, 1620 cm^{-1} 处的强吸收峰归属于 $\delta_{\text{H-O-H}}$ 弯曲振动, 1382 cm^{-1} 处的吸收峰归属于羧基 $\text{C}-\text{OH}$ 的伸缩振动, 1056 cm^{-1} 处的吸收峰归属于 $\text{C}-\text{O}$ 的弯曲振动. 在CPT/GO复合物的FT-IR光谱图中(图4c), 观察到了GO的所有特征吸收峰, 只是 1723 和 1056 cm^{-1} 处两个吸收峰的强度明显减弱, 由二者相互作用所致; 另外, 在 2935 和 2864 cm^{-1} 处出现了CPT的两个 $\text{C}-\text{H}$ 伸缩振动吸收峰, 在 1700 cm^{-1} 处出现了CPT分子中 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动吸收峰, 在 1100 cm^{-1} 处出现了CPT分子中 $\text{C}-\text{O}$ 振动吸收峰^[4]. 纯CPT分子中 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动吸收峰原在 1650 cm^{-1} 处^[31], 与GO形成复合物后红移至 1700 cm^{-1} 处, 也表明GO和CPT间存在相互作用.

图4 NO_3 -HTlc (a), GO (b), CPT/GO (c)和CPT/GO/HTlc (d)的FT-IR谱图

Figure 4 FT-IR spectra of (a) NO_3 -HTlc, (b) GO, (c) CPT/GO and (d) CPT/GO/HTlc

2.2 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的制备及表征

先采用非稳态共沉淀法合成了 $\text{Mg}_3\text{Al-NO}_3$ HTlc^[34], 其XRD图具有水滑石的特征衍射峰(图5a), 在 $2\theta=9.89^\circ$ 的衍射峰归属于(003)晶面衍射, d_{003} 值(层间距)为 0.89 nm , 与我们的先前报道一致^[27,28,34]. 元素分析和热重分析结果表明, 其化学组成为 $[\text{Mg}_{0.74}\text{Al}_{0.26}(\text{OH})_2] \cdot (\text{NO}_3)_{0.20}(\text{CO}_3)_{0.03} \cdot 0.54\text{H}_2\text{O}$. 将HTlc样品分散在甲酰胺中, 经超声处理得透明均匀分散体(图6a), 表明HTlc发生剥离^[35], 在其XRD图中(图5b), 类水滑石的特征衍射峰消失, 只在 $2\theta\ 25^\circ$ 附近出现一个馒头峰, 表明完全剥离为纳米单片^[24,27,28].

CPT/GO复合物水分散体为黑褐色均匀体系(图6b), 与HNS甲酰胺分散体混合后立即形成絮凝沉淀(图6c), 表明发生了共组装且是一个快速过程, 与HNS和GO的共组装过程相似^[29], CPT的存在对共组装过程无明显影响. XRD分析表明(图5c), 共组装产物出现了类水滑石的(003)特征衍射峰, 表明恢复了HTlc的层状结构; 但与HTlc的XRD图相比, (003)衍射峰的位置明显前移至 $2\theta\ 6.58^\circ$, d_{003} 值为 1.35 nm , 层间距明显增大, 表明GO单片插入HTlc层间形成了CPT/GO/HTlc纳米杂化物. HTlc单层厚度约 0.48 nm ^[36], CPT/GO复合物的层间距为 0.84 nm (图2d), 二者之和与CPT/GO/HTlc纳米杂化物的层间距相符, 表明纳米杂化物是由HNS和负载CPT的GO单片相间叠加而成, 其结构示意图见图7A. TEM观察表明, CPT/GO/HTlc纳米杂化物样品为片状颗粒(图7B), 符合层层组装习性, 其横向尺寸约 600 nm , 也与GO纳米片大小相近. AFM表征结果(图7C)表明, 颗粒厚度约 33 nm . SEM-EDS分析(图7D)表明, 颗粒表面主要由镁、铝、碳、氧和氮组成, 其原子百分比分别为 5.36% 、 2.68% 、 39.73% 、 45.11% 和 6.90% . 另外, 对比TEM和SEM照片可以看出, 纳米杂化物样品烘干后发生明显聚集, 如何改善其分散稳定性是一个有待研究的课题.

图5 NO_3 -HTlc (a), HNS (b)和CPT/GO/HTlc (c)的XRD图

Figure 5 XRD patterns of (a) NO_3 -HTlc, (b) HNS and (c) CPT/GO/HTlc

图6 HNS (a), CPT/GO (b)和 CPT/GO/HTlc (c)分散体系的照片
Figure 6 Photos of (a) HNS, (b) CPT/GO and (c) CPT/GO/HTlc dispersions

值得注意的是,文献报道的采用AFM测定的GO薄片厚度为 $0.8\sim 1.6\text{ nm}$ ^[6,14,33],较高的厚度结果可能是吸附水^[14]或双层所致,因其单片厚度不应超过GO层间距($0.76\sim 0.84\text{ nm}$). HNS与CPT/GO共组装的驱动力为静电作用. HNS的zeta电位为 26.1 mV , CPT/GO复合物的zeta电位为 -29.2 mV ,静电吸引作用促使二者共组装形成交互叠加的层状纳米杂化物^[29]. CPT/GO/HTlc纳米杂化物的zeta电位是 -11.2 mV ,其负电性低于CPT/GO复合物,这利于穿透细胞膜,提高药物输送效率.

HTlc和CPT/GO/HTlc纳米杂化物的FT-IR谱图绘于图4中.在HTlc样品的谱图中(图4a),出现了

$\text{NO}_3\text{-HTlc}$ 的所有特征吸收峰^[27], 3478 cm^{-1} 附近的强宽吸收峰归属于层片羟基和层间水分子的伸缩振动, 1631 cm^{-1} 处的吸收峰归为水分子的变形振动, 1379 cm^{-1} 处的吸收峰是层间 NO_3^- 的 ν_2 振动所致, 670 cm^{-1} 处的吸收峰归属于层板 M-O-H 的伸缩振动, 550 cm^{-1} 和 460 cm^{-1} 的吸收峰归属于金属-氧(M-O)的晶格振动.在CPT/GO/HTlc纳米杂化物的谱图中(图4d),可分别观察到HTlc、GO和CPT的特征吸收峰,但原CPT/GO复合物中 1700 cm^{-1} 处的CPT分子 C=O 伸缩振动吸收峰和 1620 cm^{-1} 处的 $\delta_{\text{H-O-H}}$ 弯曲振动吸收峰分别红移至 1619 和 1550 cm^{-1} 处,表明CPT和吸附水分子与HNS间存在相互作用(可能是氢键).

图8为GO、HTlc和CPT/GO/HTlc纳米杂化物的TGA/DSC曲线, $150\text{ }^\circ\text{C}$ 前失重可视作物理吸附水的脱除. GO失重过程明显分为两个阶段:第一阶段在 $180\sim 250\text{ }^\circ\text{C}$,缘于不稳定含氧基团的脱除^[33],相应地在 $233\text{ }^\circ\text{C}$ 出现一个放热峰;第二阶段在 $380\sim 505\text{ }^\circ\text{C}$,可归为GO骨架的分解或燃烧^[32],相应地在 $499\text{ }^\circ\text{C}$ 出现一个放热峰. HTlc可视作一步失重,发生在 $310\sim 550\text{ }^\circ\text{C}$,由类水镁石层板脱水和 NO_3^- 分解所致^[37],相应地在 $442\text{ }^\circ\text{C}$ 出现一个吸热峰. CPT/GO/LDH纳米杂化物体现出GO和HTlc的失重过程,也可分为两个阶段,分别出现在 $150\sim 310\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $310\sim 550\text{ }^\circ\text{C}$,第二阶段相应地在 $479\text{ }^\circ\text{C}$ 出现一个放热峰.在 $150\sim 600\text{ }^\circ\text{C}$ 范围内,GO、HTlc和CPT/GO/HTlc

图7 CPT/GO/HTlc纳米杂化物的结构示意图(A)、TEM (B)、AFM (C)和SEM-EDS (D)照片
Figure 7 (A) Schematic structure, (B) TEM, (C) AFM and (D) SEM-EDS images of CPT/GO/HTlc nanohybrid

纳米杂化物的失重率分别约为 70%、36%和 50%。萃取-分光光度计法测得 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的载药量为 13.4 mg/g。结合 TGA 和载药量结果,可以推算出纳米杂化物中 GO 与 HNS 的质量比约为 0.63,略高于原料配比值(0.47)。另外,在纳米杂化物中 CPT/GO 的载药量约为 33 mg/g,明显低于原 CPT/GO 复合物的载药量(61.0 mg/g),说明共组装过程中发生 CPT 脱附,这是因为甲酰胺是 CPT 的良溶剂。

图 8 GO (a), NO_3 -HTlc (b) 和 CPT/GO/HTlc (c) 的 TGA/DSC 曲线
Figure 8 TGA/DSC curves of (a) GO, (b) NO_3 -HTlc and (c) CPT/GO/HTlc

2.3 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的药物释放

图 9 是 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物在 37 °C、pH 分别为 7.4 和 4.0 的磷酸缓冲液中的药物释放动力学曲线。可以看出,前 2 h 释放较快,随后释放变缓,约 8 h 后达释放平衡。另外,药物释放具 pH 响应性,在 pH 4.0 环境中的药物释放速率和释放率高于 pH 7.4,与文献^[5]报道一致,也与药物-HTlc 纳米杂化物的释放结果一致^[38,39]。在 pH 4.0 和 7.4 环境中的最大药物释放率分别为 31.1% 和 26.8%,明显高于文献报道的 CPT/GO 复合物的最大药物释放率(低于 17%)^[4,5]。药物释放的 pH 响应性和低释放率是 GO 和 RGO 载体的特性^[4-6,9,13]。具芳香结构的疏水性药物在 GO 或 RGO 上负载的主要驱动力是二者间的 π - π 作用和疏水作用,低释放率可归结于强的 π - π 作用,酸性介质中的释放率增大预示着 π - π 作用的减弱^[4-6,13]。

纳米杂化物的药物扩散释放过程可分为颗粒内部扩散和颗粒外部溶剂化层中扩散两个步骤,其中速率慢的步骤为整个释放过程的速率控制步骤。Bhaskar 等^[40]提出了一个判断颗粒内部扩散是否为速率控制步骤的简单方法,对颗粒内部扩散控制的释放过程,其 X_t 与 t 的关系为 $\ln(1-X_t) = -1.59(6/d_p)^{1.3} D^{0.65} t^{0.65}$,其中 d_p 为颗粒直径, D 为扩散系数。如果颗粒内部扩散是释放速率控制步骤,则 $\ln(1-X_t)$ 与 $t^{0.65}$ 呈线性关系。CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的 Bhaskar 模型曲线见图 10A。可以看出,

图 9 CPT/GO/HTlc 在磷酸缓冲溶液中的药物释放曲线(37 °C)
Figure 9 Release profiles of CPT/GO/HTlc in phosphate buffer solution at 37 °C

pH=7.4 时为良好的直线,线性相关系数(R^2)为 0.9700;而 pH=4.0 时为曲线,不符合线性关系,表明颗粒内部扩散不是唯一的控制步骤,HNS 的酸溶解也有重要影响^[27]。由此可得出,酸性介质中药物释放速率高于碱性介质,除与 CPT 和 GO 间的 π - π 作用降低有关外,还与 HNS 的酸溶解有关。另外,对药物释放前后的纳米杂化物颗粒形貌进行了 SEM 观察,发现在 pH=7.4 介质中形貌无明显变化,而在 pH=4.0 介质中有颗粒破碎趋势,可能由酸溶解所致。

药物释放动力学过程通常用准一级或准二级动力学方程描述,二者的线性表示式分别为 $\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t$ 和 $t/q_t = 1/(k_2 q_e^2) + t/q_e$,其中 q_t 和 q_e 分别为 t 时刻和平衡释放量, k_1 和 k_2 分别为准一级和准二级速率常数。对 pH=7.4 和 4.0 缓冲溶液中的药物释放动力学数据进行拟合,准一级动力学方程拟合线的 R^2 分别为 0.9400 和 0.8955,准二级动力学方程拟合线的 R^2 分别为 0.9742 和 0.9947,表明均较好地符合准二级动力学方程(图 10B),速率常数 k_2 分别为 4.09 和 7.92 $\text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$,酸性介质中较高的速率常数也表明其释放速率较快。

3 结论

采用共组装法成功制备了 CPT/GO/LDH 纳米复合物。先将 CPT 负载于 GO 表面制备成 CPT/GO 复合物,再与 Mg-Al HNS 共组装,形成 GO 纳米片和 HNS 相间叠加的纳米杂化物,CPT 负载于层间。采用 XRD、TEM、AFM、SEM-EDS、FT-IR、UV-vis 和 TGA/DSC 等技术进行了表征,在 pH 7.4 和 4.0 的磷酸缓冲液中考察了药物释放行为。CPT/GO/LDH 纳米复合物的药物释放过程符合准二级动力学方程,且具 pH 响应性,酸性(pH 4.0)介质中的释放速率和释放率明显高于中性(pH 7.4)介质,在药物输送领域具有良好的应用前景。

图 10 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物药物释放 Bhaskar (A)和准二级动力学模型(B)拟合线

Figure 10 Plots of (A) Bhaskar model and (B) pseudo-second order kinetic model for the release of CPT from the CPT/GO/HTlc

4 实验部分

4.1 试剂与仪器

喜树碱(纯度 99.7%)购于湖北黄石药业有限责任公司;天然鳞片石墨购于 Alfa Aesar 公司. 其它试剂均为分析纯, 购于国药集团化学试剂公司. 实验用水为自制蒸馏水.

日本理学 D/max-rA 型转靶 X 射线衍射(XRD)仪, CuK α 射线, 电流 80 mA, 电压 40 kV; 德国布鲁克 VERTEX-70 型傅里叶变换红外(FT-IR)吸收光谱仪, KBr 压片; 日本 JEOL 公司 JEM-1011 型透射电子显微镜(TEM)和 JSM-6700F 型扫描电子显微镜(SEM); 美国 Digital Instruments Inc. 的 Nanoscope IIIa 原子力显微镜(AFM); HP 8453 型紫外-可见(UV-vis)分光光度计; 英国马尔文 Zetasize nano ZS90 型 Zeta 电位测定仪; 德国 Netzsch 公司 STA 449 F3 型热重分析-差示扫描量热(TGA/DSC)仪, 空气气氛, 升温速度 10 °C/min; 美国 Jarrel-Ash 公司 ICAP-9000 电感耦合等离子体-原子发射光谱仪(ICP-AES); 德国 Vario EL III 型元素分析仪.

4.2 HTlc 合成及剥离

采用非稳态共沉淀法合成 Mg₃Al-NO₃ HTlc^[34]. 用 Mg(NO₃)₂·6H₂O 和 Al(NO₃)₃·9H₂O 配制总离子浓度为 0.5 mol/L、Mg²⁺/Al³⁺物质的量比为 3:1 的混合盐溶液, 在 N₂ 保护和强烈搅拌下, 加入 0.25 mol/L 稀氨水(质量百分比浓度 25%)溶液, 调节体系 pH=9.5, 室温老化 45 min 后, 过滤洗涤; 将滤饼密封于玻璃瓶中, 于 80 °C 恒温胶溶 24 h, 得到 Mg₃Al-NO₃ HTlc 胶体产品; 60 °C 真空干燥, 研磨得 Mg₃Al-NO₃ HTlc 粉末样品.

将 HTlc 在甲酰胺中剥离制备 HNS^[35]. 取 1 g HTlc 样品分散在 100 mL 甲酰胺中, 搅拌均匀, 超声处理 0.5 h, 得到透明澄清的 HNS 甲酰胺分散体.

4.3 GO 的合成

采用改进的 Hummers 法合成 GO^[14]. 在 250 mL 三口瓶中, 加入 1 g 石墨片、46 mL 浓硫酸(质量百分比浓度 98%)和 1 g 硝酸钠, 冰浴恒温 0 °C 和搅拌下加入 6 g 高锰酸钾; 升温至 35 °C, 搅拌 2 h; 缓慢加入 15 mL 蒸馏水, 恒温 98 °C 搅拌 15 min; 再加入 200 mL 蒸馏水和 20 mL 双氧水, 终止反应. 离心, 先用稀盐酸(质量百分比浓度 5%)离心洗涤, 再用蒸馏水离心洗涤至中性, 得 GO 样品. 配制 1.0 g/L 的 GO 水分散体, 超声处理 2 h, 得剥离 GO 纳米片分散体(横向尺寸低于 500 nm)^[2,3,11].

4.4 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的制备

取 0.30 g CPT 加入 50 mL 二甲亚砜中, 搅拌溶解得 6.0 g/L 的 CPT 二甲亚砜溶液; 与 30 mL 0.02 g/L GO 分散体混合, 室温搅拌 24 h; 蒸馏水中透析除去二甲亚砜和游离 CPT, 离心除去 CPT 颗粒, 得 CPT/GO 复合物水分散体, 浓度为 0.05 g/L.

将 1 mL HNS 甲酰胺分散体(10 g/L)和 100 mL CPT/GO 复合物水分散体(0.05 g/L)混合, 搅拌 30 min, 有沉淀生成, 离心、蒸馏水洗涤, 60 °C 真空干燥即得 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物.

4.5 载药量的测定

采用萃取-分光光度计法测定 CPT/GO 复合物和 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的载药量. 取 10 mL CPT/GO 复合物水分散体, 加入 2 mL 氯仿, 室温震荡 15 min 萃取喜树碱, 用分光光度计在波长 365 nm 下测定 CPT 氯仿溶液的吸光度, 依据标准工作曲线和所取复合物质量计算出 CPT/GO 复合物的载药量(A_c). 取 10 mg CPT/GO/HTlc 纳米杂化物样品, 用 10 mL 浓度为 1.0 mol·L⁻¹ 的盐酸溶液溶解, 加入 10 mL 氯仿萃取其中喜树碱, 同样方法测定 CPT/GO/HTlc 纳米杂化物的载药量. 每个实验平行做三次, 结果取其平均值, 相对误差低于 6%.

4.6 药物释放量的测定

将 50 mg CPT/GO/HTlc 纳米杂化物样品置于 50 mL

pH=4.0 或 7.4 的磷酸缓冲溶液中, 恒温 37 °C 震荡. 每隔一段时间(t)取 2 mL 溶液, 滤膜过滤后测其在 365 nm 处的吸光度, 并向体系中补充相同体积相同温度的缓冲溶液. 根据标准工作曲线得出滤液中的 CPT 浓度, 进而计算出释放量(q_t)和释放率(X_t). 每个实验平行做三次, 结果取其平均值, 相对误差低于 6%.

References

- [1] Liu, Z. F. *Acta Chim. Sinica* **2014**, *72*, 267. (刘忠范, 化学学报, **2014**, *72*, 267.)
- [2] Hu, Y. J.; Jin, J.; Zhang, H.; Wu, P.; Cai, C. X. *Acta Phys. Chim. Sin.* **2010**, *26*, 2073. (胡耀娟, 金娟, 张卉, 吴萍, 蔡称心, 物理化学学报, **2010**, *26*, 2073.)
- [3] Liu, J. Q.; Cui, L.; Losic, D. *Acta Biomaterialia* **2013**, *9*, 9243.
- [4] Liu, Z.; Robinson, J. T.; Sun, X.; Dai, H. J. *Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10876.
- [5] Zhang, L. M.; Xia, J. G.; Zhao, Q. H.; Liu, L. W.; Zhang, Z. J. *Small* **2010**, *6*, 537.
- [6] Yang, X. Y.; Zhang, X. Y.; Liu, Z. F.; Ma, Y. F.; Huang, Y.; Chen, Y. S. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 17554.
- [7] Li, X.; Zhao, D. L.; Bai, L. Z.; Li, F.; Zhao, H. J.; Gao, L. F. *J. Funct. Mater.* **2013**, *44*(1), 96. (李晓, 赵东林, 白利忠, 李峰, 赵海静, 高龙飞, 功能材料, **2013**, *44*(1), 96.)
- [8] Gao, J.; Bao, F.; Feng, L. L.; Shen, K. Y.; Zhu, Q. D.; Wang, D. F.; Chen, T.; Ma, R.; Yan, C. J. *RSC Adv.* **2011**, *1*, 1737.
- [9] Fan, X. J.; Jiao, G. Z.; Zhao, W.; Jin, P. F.; Li, X. *Nanoscale* **2013**, *5*, 1143.
- [10] Xu, Z. Y.; Li, Y. J.; Shi, P.; Wang, B. C.; Huang, X. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 573. (徐志远, 李永军, 史萍, 王博婵, 黄晓宇, 有机化学, **2013**, *33*, 573.)
- [11] Xu, Z. Y.; Li, Y. J.; Shi, P.; Wang, B. C.; Huang, X. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 2162. (徐志远, 李永军, 史萍, 王博婵, 黄晓宇, 有机化学, **2013**, *33*, 2162.)
- [12] Wang, C. S.; Li, J. Y.; Amatore, C.; Chen, Y.; Jiang, H.; Wang, X. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11644.
- [13] Yang, X. Y.; Wang, Y. S.; Huang, X.; Ma, Y. F.; Huang, Y.; Yang, R. C.; Duan, H. Q.; Chen, Y. S. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 3448.
- [14] Wang, Y.; Zhang, D.; Bao, Q.; Wu, J. J.; Wan, Y. J. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 23106.
- [15] Li, F.; Duan, X. *Struct. Bond.* **2006**, *119*, 193.
- [16] Zhang, X. Q.; Zeng, M. G.; Li, S. P. *Acta Chim. Sinica* **2013**, *71*, 246. (张晓晴, 曾美桂, 李淑萍, 化学学报, **2013**, *71*, 246.)
- [17] Ma, X. M.; Pang, X. J.; Quan, Z. L.; Hou, W. G. *Chem. J. Chin. Univ.* **2013**, *34*, 913. (马秀明, 庞秀江, 全贞兰, 侯万国, 高等学校化学学报, **2013**, *34*, 913.)
- [18] Xia, Z. Y.; Du, N.; Liu, J. Q.; Hou, W. G. *Chem. J. Chin. Univ.* **2013**, *34*, 596. (夏志勇, 杜娜, 刘建强, 侯万国, 高等学校化学学报, **2013**, *34*, 596.)
- [19] Wang, Q.; O'Hare, D. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4124.
- [20] Mousty, C.; Kaftan, O.; Prevot, V.; Forano, C. *Sens. Actuators B: Chem.* **2008**, *133*, 442.
- [21] An, Z.; Lu, S.; He, J.; Wang, Y. *Langmuir* **2009**, *25*, 10704.
- [22] Bellezza, F.; Alberani, A.; Posati, T.; Tarpani, L.; Latterini, L.; Cipiciani, A. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *106*, 134.
- [23] Bellezza, F.; Cipiciani, A.; Latterini, L.; Posati, T.; Sassi, P. *Langmuir* **2009**, *25*, 10918.
- [24] Wu, X. W.; Wang, S.; Du, N.; Zhang, R. J.; Hou, W. G. *J. Solid State Chem.* **2013**, *203*, 181.
- [25] Zhu, H.; Huang, S.; Yang, Z.; Liu, T. X. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 2950.
- [26] Fu, P. J.; Xu, K. L.; Song, H. Z.; Chen, G. M.; Yang, J. P.; Niu, Y. H. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 3869.
- [27] Lu, X. M.; Meng, L. M.; Li, H. P.; Du, N.; Zhang, R. J.; Hou, W. G. *Mater. Res. Bull.* **2013**, *48*, 1512.
- [28] Wu, X. W.; Li, H. P.; Song, S.; Zhang, R. J.; Hou, W. G. *Int. J. Pharm.* **2013**, *454*, 453.
- [29] Wang, L.; Wang, D.; Dong, X. Y.; Zhang, Z. J.; Pei, X. F.; Chen, X. J.; Chen, B.; Jin, J. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3556.
- [30] Li, B.; Zhao, Y. F.; Zhang, S. T.; Gao, W.; Wei, M. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 10233.
- [31] Yang, Z.; Ji, S. S.; Gao, W.; Zhang, C.; Ren, L. L.; Tjiu, W. W.; Zhang, Z.; Pan, J. S.; Liu, T. X. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *408*, 25.
- [32] Hong, N. N.; Song, L.; Wang, B. B.; Stec, A. A.; Hull, T. R.; Zhan, J.; Hu, Y. *Mater. Res. Bull.* **2014**, *49*, 657.
- [33] Zhu, C. Z.; Guo, S. J.; Fang, Y. X.; Dong, S. J. *ACS Nano* **2010**, *4*, 2429.
- [34] Liu, C. X.; Hou, W. G.; Li, Y.; Li, L. *Chin. J. Chem.* **2008**, *26*, 1806.
- [35] Wu, Q. L.; Olafsen, A.; Vistad, B.; Roots, J.; Norby, P. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 4695.
- [36] Wang, J.; Zhou, J. D.; Li, Z. S.; Song, Y. C.; Liu, Q.; Jiang, Z. H.; Zhang, M. L. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 14404.
- [37] Rives, V. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 406.
- [38] Liu, C. X.; Hou, W. G.; Li, L. F.; Li, Y.; Liu, S. J. *J. Solid State Chem.* **2008**, *181*, 1792.
- [39] Dong, L.; Li, Y.; Hou, W. G.; Liu, S. J. *J. Solid State Chem.* **2010**, *183*, 1811.
- [40] Bhaskar, R.; Murthy, R.; Miglani, B.; Viswanathan, K. *Int. J. Pharm.* **1986**, *28*, 59.

(Cheng, B.; Lu, Z.)