

· 论 著 ·

6-巯基嘌呤在 HPMCAS 包覆介孔分子筛 SBA-15 药物系统中的缓释行为研究*

陈 稚¹, 吴都督^{2△}, 何仰芬², 陈文芳²

(广东医学院:1. 分析中心;2. 药学院, 广东东莞 523808)

摘要:目的 制备 pH 敏感的药物控释系统醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)/SBA-15。方法 将肠溶性的 HPMCAS 作为包覆材料, 包覆于负载了抗癌药物 6-巯基嘌呤(6-MP)的 SBA-15 介孔分子筛表面, 制备 HPMCAS/SBA-15, 并考察 HPMCAS/SBA-15 系统在模拟胃液中(pH=1.2)和模拟肠液中(pH=7.5)的释放行为。结果 在模拟胃液中(pH=1.2), HPMCAS 能明显地延缓 6-MP 的释放速度。药物释放 4 h 后, 其释放率仅为 12.5%。而在模拟肠液中(pH=7.5), HPMCAS 能够迅速溶于肠液, 对 6-MP 释放速度的影响较小。药物释放 4 h 后, 释放率可达到 85.4%。同时, 发现膜的干燥温度影响 6-MP 的释放行为, 干燥温度越高, 药物系统在模拟胃液中的缓释效果越强。结论 HPMCAS/SBA-15 是一种良好的 pH 敏感型药物缓释材料。

关键词:6-巯基嘌呤;介孔分子筛;pH 敏感;药物缓释;醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.03.005

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)03-0251-04

The study on mesoporous molecular sieve SBA-15 tablet coated with HPMCAS as a drug release carrier for 6-mercaptopurine*

Chen Zhi¹, Wu Dudu^{2△}, He Yangfen², Chen Wenfang²

(1. Center of Analysis; 2. School of Pharmacy, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To prepare a pH-sensitive drug release system hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate(HPMCAS)/SBA-15. **Methods** HPMCAS / SBA-15 was synthesized by coating HPMCAS on a SBA-15. Two kinds of release fluids, including simulated intestinal fluid(SIF, pH=7.4) and simulated gastric fluid(SGF, pH=1.2) were used to investigate the drug release behavior of the HPMCAS/SBA-15 system. **Results** In SGF(pH=1.2), HPMCAS coating materials could effectually delay the release rate of 6-MP. After 4 hours of drug release, the release rate was 12.5%. However, in SIF(pH=7.5), no distinct influence of the coating materials on the drug delivery rate was found, which was possible that HPMCAS could quickly dissolve into the SIF. After 4 hours of drug release, the release rate rose to 85.4%. Moreover, it was found that the higher drying temperature of HPMCAS, the better performance of the drug release HPMCAS/SBA-15 system. **Conclusion** The prepared HPMCAS/SBA-15 system is a good pH-sensitive drug carrier.

Key words: 6-mercaptopurine; mesoporous molecular sieves; pH-sensitive; drug release; hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate

6-巯基嘌呤(6-MP)是常用的抗癌药物。但在传统口服给药方式中, 药物在到达肠道以前大部分就被胃吸收或者被胃中的酶所破坏, 这样不仅降低了药物到达肠道后的有效浓度, 而且药物对造血系统的毒副反应容易使胃、肝等正常器官受到伤害^[1-2]。最近, 纳米技术的发展激发了广大研究者使用新开发的纳米材料作为医药载体的兴趣。而硅基介孔分子筛因具有分布均匀且连续可调的纳米孔径、高比表面积和良好的生物相容性等优点, 已成为一种新型药物载体^[3-9]。另外, 考虑到胃和肠道各自环境中 pH 的差异, 如能设计一种 pH 控制的药物释放载体应用于肠道药物控释应该是一个切合实际的研究方向。然而, 到目前为止, 基于介孔分子筛这种新型载体的肠道药物控释研究却只有很少的报道。部分学者利用羧基官能化 SBA-15 表面的 COOH 和聚电解质 PDAA 之间的静电相互作用, 研

究开发了一种 pH 敏感药物释放载体, 但该释控系统对酸过于敏感, 对 6-MP 应用于肠道给药价值不大^[10]。因此, 如果能设计出一种 pH 控制肠道药物释控系统, 它能够很明显地延缓 6-MP 在胃液中的释放速度, 而且又不限制 6-MP 在肠液中的释放, 那么所得到的应是一个好的肠道靶向药物释放系统。而且该释控系统还可阻止毒副反应对胃、肝等器官的损害, 对肠癌的治疗应具有广阔的前景。醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯(HPMCAS)是以羟丙基甲基纤维素与醋酸、琥珀酸酐酯化得到的一种性能优良的 pH 敏感的包覆材料, 它因具有安全无毒、溶解性好、在体内不易被酶破坏等特点, 是一种理想的介孔分子筛的包覆材料^[11]。本文以 pH 敏感的 HPMCAS 作为包衣材料, 通过简单的提拉方法, 将其包覆于介孔分子筛 SBA-15 表面, 制备 pH 敏感的 HPMCAS/SBA-15 药物控释载体, 同时

* 基金项目: 2010 年广东省教育厅育苗工程; 广东省建设中医药强省项目(20111245, 20122080); 湛江市科技攻关计划项目(2012C3102014); 广东医学院学生创新项目(M2011001)。

△ 通讯作者, Tel: (0769)22896321; E-mail: wududuc@126.com。

作者简介: 陈稚(1979~), 讲师, 硕士, 主要从事中药学和肿瘤学方面的研究。

以 6-MP 为模型药物,将其负载于控释载体中,并考察其在模拟胃液(SGF)和模拟肠液(SIF)中的缓释行为,以验证 HPM-CAS/SBA-15 载体的 pH 敏感性能。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 6-巯基嘌呤分析纯由 Sigma 公司提供;醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯分析纯由湖州四风生物科技有限公司提供;P123 分析纯由 Aldrich 公司提供;正硅酸乙酯分析纯由天津市化学试剂一厂提供;磷酸二氢钾、磷酸氢钾分析纯由天津科密欧化学试剂公司提供;无水乙醇、盐酸分析纯由广东番禺化学试剂厂提供。

1.2 方法

1.2.1 介孔分子筛 SBA-15 的合成 在磁力搅拌下,将 6.0 g 表面活性剂 P123 加入到 80 mL 1.5 mol/L 的 HCl 溶液中,恒定温度在 40 ℃,搅拌至 P123 完全溶解后,加入 8.0 mL 的正硅酸乙酯。反应混合物在 40 ℃ 下恒温搅拌 24 h 后转移至 100 mL 的晶化釜中,于 100 ℃ 下晶化 36 h。所得产物过滤后,用去离子水和无水乙醇反复冲洗直至滤液的 pH 为 7.0,然后样品在 80 ℃ 下干燥,最后将样品在索氏抽提器中用无水乙醇萃取 48 h,80 ℃ 下烘干即得纯硅基介孔 SBA-15。

1.2.2 药物吸附 分别取 1.0 g SBA-15 粉末和 1.5 g 6-巯基嘌呤,加入到 250 mL 的去离子水和甲醇的等体积混合溶剂中。室温下搅拌 12 h 后过滤,所得固体在 80 ℃ 烘箱中干燥。取 2.0 mL 滤液稀释到 25.0 mL,用 WFZ-26A 型紫外可见分光光谱仪(天津拓普仪器有限公司)测定溶液中的 6-MP 的浓度,并按以下公式确定载药量。载药量=[(投入药物质量-游离药物质量)/载体质量]×100%。

1.2.3 HMPCP/SBA-15 的制备和药物缓释 取 0.20 g 负载了药物的 SBA-15 粉末,在 5.0 MPa 的轴向压力下制得 13 mm×3 mm 的药片。然后将 4.0 g 的 HPMCAS 加入到甲醇和去离子水的混合溶剂中(甲醇和水的体积比=1:1),搅拌至 HPMCAS 全部溶解。接着以提拉的方式在 SBA-15 药片上包覆 HPMCAS 聚合物,提拉的速度控制在 20 cm/min。每个药片的 HPMCAS 包覆过程重复 5 次。最后,将包覆有 HPMCAS 聚合物膜的药片置烘箱中干燥 1 h,备用。然后,在 100 r/min 的搅速下,将以上所得药片分别在模拟胃液(pH=1.2, HCl 水溶液)和模拟肠液(pH=7.4,磷酸氢钾和磷酸二氢钾的缓冲溶液)中研究药物缓释行为,实验温度控制在 37 ℃。用 WFZ-26A 型紫外可见分光光谱仪测定溶液中释放出来的 6-巯基嘌呤的浓度,并按以下公式确定药物释放率。药物释放率=(释放过程中游离的药物质量/负载的药物质量)×100%。

1.2.4 材料表征 透射电镜(TEM)测试于日立 H 600 透射电镜仪进行,具体操作:首先把少量样品放入称量瓶内,乙醇作分散剂,超声振荡 20 min 后,用洁净的滴管取一滴于铜网上,干燥后进行观察,操作电压为 200 kV。

红外光谱在 FTS175C-UMA500 型傅利叶红外光谱仪(美国 Bio-Rad 公司)上测得,光谱分辨率为 4 cm⁻¹,扫描累加 128 次。采用 KBr 压片法进行测定。

X-射线衍射(XRD)测试于日本理学(Rigaku) D/max-γA 型 X 射线衍射仪进行,使用 CuK α 辐射(λ=0.154 2 nm),金属 Ni 滤波,石墨单色器,电压 40 kV,电流 30 mA,闪烁计数器记

录强度。

N₂ 吸附脱附和孔分布在美国 Tristar 3000 自动物理吸附仪上进行。样品在 80 ℃ 和 10⁻⁶ mm Hg 下脱气 12 h 后,在 -196 ℃ 下进行测定,并由 Brunauer-Emmett-Teller(BET) 方程计算样品的比表面积,用 Barrett-Joyner-Halenda(BJH) 方法和 N₂ 吸附-脱附曲线中的脱附分支计算材料的孔分布。

2 结果

2.1 SBA-15 介孔分子筛的材料表征与其负载 6-MP 前后的 XRD 图 图 1 是 SBA-15 介孔分子筛透射电镜图。由图可见,本文所合成的 SBA-15 长度约为 10~20 μm。图 2 是负载 6-MP 前后的 SBA-15 介孔分子筛的 XRD 图,由图可见,SBA-15 在负载 6-MP 前后均在 2θ=1.0°左右存在一个六方晶系 d100 衍射主峰。

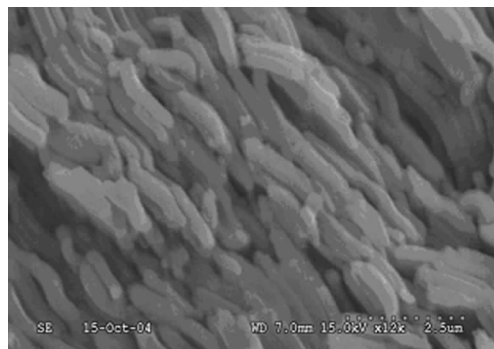
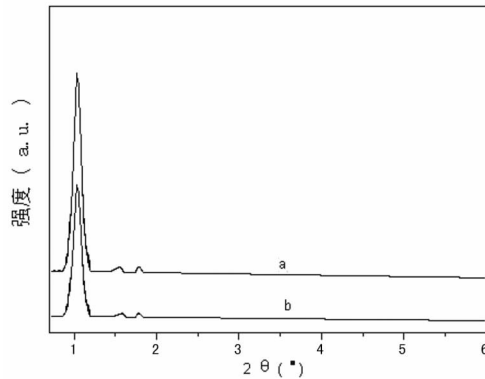


图 1 SBA-15 介孔分子筛的透射电镜图

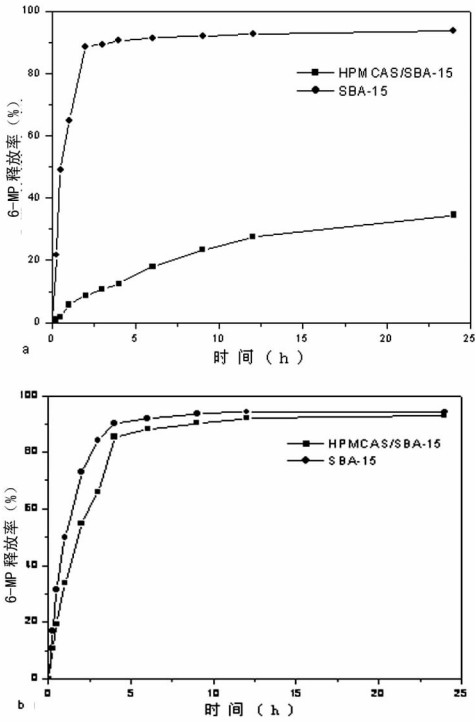


a: 负载 6-MP 之前; b: 负载 6-MP 之后。

图 2 SBA-15 介孔分子筛的 XRD 图

2.2 SBA-15 介孔分子筛的主要红外吸收峰变化与织构参数和药物负载量 表 1 列举了 SBA-15 介孔分子筛在吸附 6-MP 前后的主要红外特征吸收峰的变化。由表 1 可见,纯 SBA-15 介孔分子筛在 3 462.0、1 648.0、1 089.0、971.1 和 801.8 cm⁻¹ 出现特征吸收峰。其中,3 462.0 cm⁻¹ 属于分子筛表面吸附水的 O-H 伸缩振动,1 648.0 cm⁻¹ 属于吸附水的 O-H 弯曲振动,1 089.0 cm⁻¹ 属于 Si-O 的不对称伸缩振动,971.1 cm⁻¹ 和 801.8 cm⁻¹ 属于 SiO₂-H 的弯曲振动^[10]。当 SBA-15 介孔分子筛吸附 6-MP 后,其表面除了依然有上述硅骨架的特征峰外,还在 2 590.0 cm⁻¹ 和 1 588.0 cm⁻¹ 出现了新的特征峰。其中,2 590.0 cm⁻¹ 属于 6-MP 的 S-H 伸缩振动,1 588.0 cm⁻¹ 属于 C=N 的伸缩振动^[12]。根据 UV/Vis 所测得的浓度,计算出 6-MP 在 SBA-15 介孔分子筛上的药物负载量为 10.4%。表 2 列

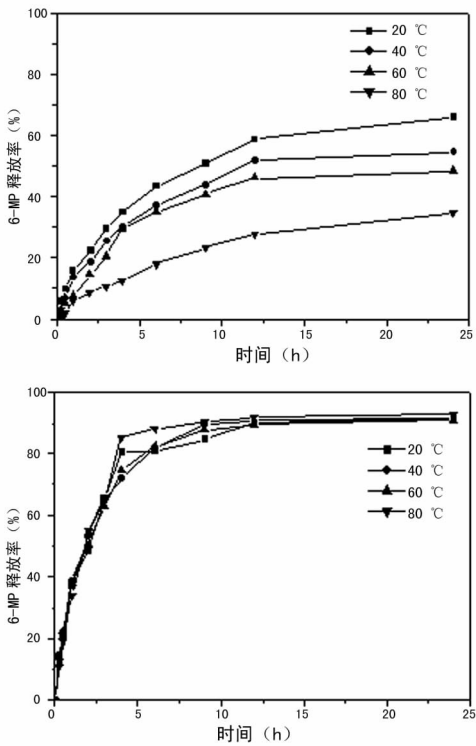
举了 SBA-15 介孔分子筛在吸附 6-MP 前后的主要织构参数的变化。药物负载后,分子筛的比表面由 429.4 m²/g 降为 401.8 m²/g,孔容由 0.847 cm³/g 降为 0.802 cm³/g,孔径由 6.8 nm 降为 6.4 nm。



a:模拟胃液;b:模拟肠液。

图 3 6-MP 在纯 SBA-15 和 HPMCAS/ SBA-15 中的释放曲线

2.3 两种载药粒在模拟胃液、肠液中的缓释和膜的干燥温度对药物释放的影响 SBA-15 载药粒和 HPMCAS/SBA-15 载药粒在模拟胃液和模拟肠液中的缓释行为见图 3。膜的干燥温度对药物释放行为的影响见图 4。



a:模拟胃液;b:模拟肠液。

图 4 膜的不同干燥温度对 6-MP 在 HPMCAS/ SBA-15 中的释放影响

表 1 SBA-15 介孔分子筛的主要红外吸收峰 (cm⁻¹)

样品	波数 O-H(H ₂ O)		SiO-H(SiO ₂)			波数 S-H(6-MP)	波数 C=N(6-MP)
	伸缩振动	弯曲振动	不对称伸缩振动	弯曲振动 1	弯曲振动 2	伸缩振动	伸缩振动
药物负载前	3 462.0	1 648.0	1 089.0	971.1	801.8	—	—
药物负载后	3 464.0	1 646.0	1 086.0	971.4	802.3	2 590.0	1 588.0

—:表示无数据。

表 2 SBA-15 介孔分子筛的结构参数和药物负载量

样品	比表面 (m ² /g)	孔容 (cm ³ /g)	孔径 (nm)	6-MP 负载量(%)
药物负载前	429.4	0.847	6.8	—
药物负载后	401.8	0.802	6.4	10.4

—:表示无数据

3 讨 论

图 1 表明本文合成的介孔分子筛具有直径均一的棒状结构。图 2 中 SBA-15 出现的 d100 衍射峰,表明样品长程有序的六方孔道结构已经形成,且与文献报道一致^[13]。另外,SBA-15 在负载 6-MP 后,其 XRD 图基本不变,表明 6-MP 在 SBA-15 负载并不会改变分子筛的有序结构。

表 1 中归属于 6-MP 的特征峰的出现,意味着 6-MP 已成功地负载到介孔 SBA-15 的表面。在表 2 中,分子筛在吸附药物后,其比表面、孔径和孔容都有不同程度的减小,这可能是由

于药物 6-MP 分子负载到介孔 SBA-15 的孔道内的缘故。另外,根据 UV/Vis 所测得的浓度,计算出 6-MP 在 SBA-15 介孔分子筛上的药物负载量为 10.4%。

从图 3a 中可以看到,未包覆 HPMCAS 的 SBA-15 载药粒在模拟胃液中释放 6-MP 的速度很快,而 HPMCAS 包覆的 SBA-15 载药粒在模拟胃液中释放 6-MP 的速度较慢。这表示 HPMCAS/SBA-15 可以很好的延缓 6-MP 在模拟胃液中的释放速度。另外,本研究发现,在模拟肠液中,药物缓释过程基本不受所包覆的 HPMCAS 膜层的影响,包覆前后的药物缓释曲线变化不大,6-MP 在模拟肠液中均可快速释放(图 3b)。由此可见,该药物缓释系统,不仅可以明显延缓 6-MP 在胃液中的释放速度,而且又不影响 6-MP 在肠液中的释放,因而是一种理想的 pH 敏感载体。

另外,本研究考察了膜的干燥温度对药物释放行为的影响^[14]。从图 4a 可见,样品干燥温度越高,6-MP 的释放速度越快。而在模拟肠液中,本研究发现制样时的干燥温度对 6-MP

的释放速度基本没有影响,6-MP 在短时间内均可快速释放(图 4b),这主要是因为 HPMCAS 在模拟肠液中,其表面的静电斥力起主导作用,可使其快速溶解的缘故^[15]。

综上所述,本文通过简单的提拉镀膜的方法,将 HPMCAS 成功包覆于负载有 6-MP 的 SBA-15 药片的表面,制备了 pH 敏感型药物缓释材料 HPMCAS/SBA-15,并且考察了其在模拟胃液和模拟肠液中的缓释行为。研究结果发现,HPMCAS/SBA-15 能够有效地延缓抗癌药物 6-MP 在模拟胃液中的释放速度,且不影响药物在模拟肠液中的释放速度,是一种良好的 pH 敏感型药物缓释材料,有望在肠道肿瘤治疗的主动靶向和控制释药方面取得应用。

参考文献:

- [1] 张波,徐小微,曾学军,等. 疏嘌呤甲基转移酶活性对疏嘌呤中间代谢物 6-巯基嘌呤药动力学的影响 [J]. 中国药学杂志,2006,41(14):1093-1096.
- [2] 冶保献,木合塔尔·吐尔洪,曲松. 抗癌药物 6-巯基嘌呤与 DNA 相互作用的电化学研究 [J]. 分析科学学报,2004,20(4):364-366.
- [3] Angelos S, Johansson E, Stoddart JF, et al. Mesoporous silica supports for functional materials and molecular machines [J]. Adv Funct Mater, 2007, 17(14):2261-2271.
- [4] Vallet-Regi M, Rámila A, Del Real RP, et al. A new property of MCM-41: Drug delivery system [J]. Chem Mater, 2001, 13(2):308-311.
- [5] Radu DR, Lai CY, Jeftinija K, et al. A polyamidoamine dendrimer-capped mesoporous silica nanosphere-based gene transfection reagent [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126(41):13216-13217.
- [6] Song SW, Hidajat K, Kawi S. Functionalized SBA-15 materials as carriers for controlled drug delivery: Influence of

surface properties on matrix-drug interactions [J]. Langmuir, 2005, 21(21):9568-9575.

- [7] Horcajada P, Rámila A, Gerard F, et al. Influence of superficial organic modification of MCM-41 matrices on drug delivery rate [J]. Solid State Sci, 2006, 8(10):1243-1249.
- [8] 董贝贝,李彩霞,李永,等. 介孔分子筛 SBA-15 的研究进展 [J]. 化学研究, 2012, 23(4):97-100.
- [9] 陈如大,任非,李国锋,等. 紫杉醇聚氧基丙烯酸正丁酯纳米粒制备研究 [J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(4):763-766, 770.
- [10] Yang Q, Wang S, Fan P, et al. pH-Responsive Carrier System Based on Carboxylic Acid Modified Mesoporous Silica and Polyelectrolyte for Drug Delivery [J]. Chem Mater, 2005, 17(24):5999-6003.
- [11] 邵自强,郑一平,李永红,等. 醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯的性能表征 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(11):846-849.
- [12] Zhao DY, Feng JL, Huo QS, et al. Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores [J]. Science, 1998, 279(5350):548-552.
- [13] 任宏江,王雄斌,王渭娜. 2,6-二巯基嘌呤异构体红外光谱的量子化学理论研究 [J]. 西安文理学院学报:自然科学版, 2008, 11(1):72-76.
- [14] 徐武军,高强,徐耀,等. 基于 HPMCP 包覆介孔 SBA-15 的 pH 敏感药物缓释系统 [J]. 化学学报, 2008, 66(14):1658-1662.
- [15] Qiu Y, Park K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 53(3):321-339.

(收稿日期:2012-10-02 修回日期:2012-12-04)

(上接第 250 页)

- of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer; 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial [J]. Lancet, 2007, 370(9601):1764-1772.
- [7] 智艳芳,李肖甫. HPV DNA 检测诊断宫颈癌前病变的意义 [J]. 当代医学杂志, 2012, 18(26):13-15.
- [8] 许丹,张玉泉. HPV 疫苗防治宫颈癌的研究进展 [J]. 现代妇产科进展杂志, 2007, 16(2):137-139.
- [9] 雷曼殊,张蔚,陈娇. HPV 疫苗的现状及问题 [J]. 医学研究杂志, 2010, 39(1):113-116.
- [10] Brown DR, Shew ML, Qadadri B, et al. A longitudinal study of genital Human papillomavirus infection in a cohort of closely followed adolescent women [J]. J Infect Dis, 2005, 191(2):182-192.
- [11] Ye J, Cheng X, Chen X, et al. Prevalence and risk profile

of cervical Human papillomavirus infection in Zhejiang Province, southeast China: a population-based study [J]. Virol J, 2010, 7:66.

- [12] 吴凤琴. 商洛市 21 种人乳头状瘤病毒感染状况分析 [J]. 海南医学院学报, 2012, 18(6):842-845.
- [13] Munoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, et al. Distribution of cervical human papillomavirus DNA in women Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer [J]. Vaccine, 2006, 24 Suppl 3:S1-10.
- [14] Jin Q, Shen K, Li H, et al. Age-specific prevalence of human papilloma-virus by grade of cervical cytology in Tibetan women [J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123(15):2004-2011.

(收稿日期:2012-10-12 修回日期:2012-12-02)