

pH-时间双依赖型载药复合物的制备及其释药行为

刘天宇, 毕玉水* [山东第一医科大学(山东省医学科学院)化学与制药工程学院, 山东 泰安 271016]

摘要: 目的 制备一种新型 ZSM-5 微孔分子筛基载药复合物, 并考察其体外释药行为。方法 以 ZSM-5 微孔分子筛为载体, 采用浸渍离心法将小分子抗肿瘤药物 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)载入分子筛中, 制备 5-FU@ZSM-5 初级药物组装体, 再以提拉法于其表面利用天然有机高分子海藻酸钠(alginate, ALG)钙化覆膜, 制备 5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物。采用紫外分光光度法考察其载药率; 利用 X 射线衍射、固体紫外-可见漫反射光谱、氮气等温吸附、扫描电镜、傅里叶变换红外光谱等手段对其结构和理化性质进行表征; 通过体外释放度试验考察其释药性能。**结果** 紫外定量分析结果表明: 载药复合物的载药率为 11.7%。表征结果表明: 小分子药物 5-FU 进入 ZSM-5 孔道, 载药后未破坏 ZSM-5 的 MFI 拓扑结构。体外“时间-溶出介质变换”释放试验表明: 与 5-FU@ZSM-5 组装体相比, 5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物呈现出显著的 pH-时间双依赖行为, 其在人工胃液中 2 h 内累积释放率<10%, 即>90%的药量能进入人工肠液, 在人工胃肠液中 48 h 内累积释放率为 85.2%。**结论** 微孔 ZSM-5 分子筛可以作为 5-FU 优良的载体材料, 配合 CaALG 可同时实现肠道定位给药和长效作用。

关键词: ZSM-5; 微孔分子筛; 浸渍离心法; 肠道靶向递送系统

中图分类号: R94 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)15-2124-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222864

引用本文: 刘天宇, 毕玉水. pH-时间双依赖型载药复合物的制备及其释药行为[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(15): 2124-2130.

Preparation and Drug Release Behavior of pH-time Dual-dependent Drug Loaded Complex

LIU Tianyu, BI Yushui* (School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Tai'an 271016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare a new ZSM-5 microporous molecular sieve based drug loaded composite and to investigate its drug release behavior *in vitro*. **METHODS** Using ZSM-5 microporous molecular sieve as carrier, a small molecule antitumor drug 5-fluorouracil(5-FU) was loaded into the molecular sieve by impregnation centrifugation and the primary drug assembly of 5-FU@ZSM-5 was prepared. Then, the surface of the primary drug assembly was coated with natural organic polymer sodium alginate(ALG) through calcification by lifting method, and the drug loaded complex of 5-FU@ZSM-5@CaALG was finally obtained. The drug loading rate of the drug loaded complex was investigated by UV spectrophotometry. The structure and physicochemical properties were characterized by X-ray diffraction, solid UV-VIS diffuse reflectance spectroscopy, nitrogen isothermal adsorption and desorption, scanning electron microscopy and Fourier transform infrared spectroscopy. The drug release performance of 5-FU@ZSM-5@CaALG was investigated by *in vitro* release degree experiment. **RESULTS** The results of UV quantitative analysis showed that the drug loading rate of the drug loaded complex was 11.7%. The characterization results showed that the small molecule drug 5-FU entered the ZSM-5 channel and did not destroy the MFI topology of ZSM-5 after drug loading. *In vitro* “time-dissolution medium transformation” release experiment showed that, compared with the drug assembly of 5-FU@ZSM-5, the drug loaded complex of 5-FU@ZSM-5@CaALG showed significant pH-time dual-dependent behavior. The cumulative release rate of the drug in the artificial gastric juice within 2 h was less than 10%, that is, more than 90% of the drug could enter the artificial intestinal juice. The cumulative release rate was 85.2% in artificial gastrointestinal fluid within 48 h. **CONCLUSION** Microporous ZSM-5 molecular sieve can be used as an excellent carrier material for 5-FU. In combination with CaALG, it can simultaneously achieve intestinal targeted drug delivery and long-term effect.

KEYWORDS: ZSM-5; microporous molecular sieve; impregnation centrifugation; intestinal targeted delivery system

肠癌是常见的恶性肿瘤, 严重威胁人类健康, 化学药物治疗仍是当前中晚期肠癌的主要治疗手段。5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是一种阻止

肿瘤细胞嘧啶类核苷酸形成的抗代谢药物, 其抗肿瘤机制主要是通过 S 期细胞相互作用, 最终触发肿瘤细胞凋亡。5-FU 具有抗瘤谱广、抗瘤活性

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划面上项目(202013020767)

作者简介: 刘天宇, 男, 硕士生 E-mail: 1647933101@qq.com

*通信作者: 毕玉水, 男, 博士, 教授 E-mail: yshbi@sina.com

高等优点,抗肿瘤作用疗效确切,并一直作为治疗肠癌和其他实体肿瘤的一种首选小分子药物^[1]。与其他许多抗肿瘤药物类似,5-FU 通常经由静脉给药,但由于其血浆半衰期极短(约 10~20 min),需频繁给药,且对肿瘤细胞的选择性较差,不良反应较大,这大大限制了其高效利用^[2]。通过物理和化学方法对 5-FU 进行修饰或功能化改造制成口服制剂是解决上述问题的有效途径。

传统的 5-FU 口服制剂是直接将 5-FU 与辅料混合,使药物机械掺杂于辅料基质中。其缺陷是药物与辅料相互作用力较弱,易产生突释现象,且药物分子在到达肠道之前大部分被胃吸收或被胃酶破坏,这不仅降低了药物在肠道部位的有效浓度和生物利用度,而且还会引起胃肠道不良反应和肝功能损伤。

近年来,口服肠道定位给药制剂因选择性强、疗效高、不良反应小、给药方便且治疗费用低等优势备受青睐,其基本策略是利用载体使药物口服后避免在胃内释出,当转运至肠部再逐渐释放出来,从而在肠内发挥疗效。其突出特点是能有效避免首过效应,选择性提高肠部药物浓度,提高药效并减轻不良反应。

为此,研究人员根据人体胃肠道生理学特征,对口服 5-FU 肠道制剂进行了探究^[3-4]。一是利用功能有机小分子对 5-FU 进行化学修饰;二是以肠溶性有机高分子进行包裹或匀质复合。剂型包括脂溶性前药、pH 依赖型、时滞型、压力感应型和酶触型。尽管相关研究取得了较大进展,但仍难以实现肠道精准给药。

无机分子筛是近年来材料领域发展迅速的一类功能材料。2001 年,Vallet-regi 等^[5]首次将硅基介孔分子筛拓展应用至药物输送领域,随后得到广泛研究;然而微孔分子筛($D < 2$ nm)在药剂学中的研究与应用并未引起足够重视。ZSM-5 分子筛是一种具有独特双十元环交叉孔道结构的硅铝酸盐,微孔丰富,比表面积大,水热稳定性高。近期还发现,ZSM-5 无毒且生物相容^[6-7],因而在小分子药物装载和释放方面具有潜在应用价值。

然而,单独 ZSM-5 微孔分子筛无法实现肠道靶向给药。海藻酸钠盐(alginate, ALG)是一种多糖类天然药用高分子材料,无毒、价廉、生物相容且易加工,作为一种优良天然肠溶材料,在肠道定位给药方面具有重要作用^[8-10]。

基于此,本实验以 5-FU 为模型小分子药物,将其装载于 ZSM-5 微孔分子筛载体中,并辅以 pH 敏感性 ALG 多糖聚电解质水凝胶膜作为包衣材料,制备 pH-时间双依赖型载药复合物;然后结合仪器技术对其结构和理化性质进行表征,并进一步考察其在人工胃肠液中的释放行为,以期获得一种具备肠道靶向和持续给药作用的新型微孔载药体系,也为微孔分子筛在新型药物传递系统中的拓展应用提供新策略。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

DF-101S 型集热式磁力搅拌器(开封市宏兴科教仪器厂);FA2004N 型万分位电子分析天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);TG16A-WS 型台式高速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);HPX-9052MBE 型电热恒温干燥箱(上海博讯实业有限公司);TDP-5 型单冲压片机(中南制药机械厂);DZF-6020 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);UV-2000 型紫外可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司);微孔滤膜(0.025 μ m, 美国 Millipore 公司);RCZ-6B3 型六杯药物溶出仪(上海黄海药检仪器有限公司);TD-3500 型多晶 X 射线衍射仪(XRD, 丹东通达科技有限公司);UV-2450PC 型固体紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);Quanta200 型扫描电子显微镜(SEM, 荷兰 FEI 公司);ASAP2020 型比表面及孔隙分析仪(美国麦克仪器公司);AVATAR370 型傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR, 美国热电尼高力仪器公司)。

1.2 试剂

ZSM-5(硅铝比 25,天津南化催化剂有限公司);5-FU(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:20210124;纯度:99%);ALG(天津市博迪化工有限公司,批号:20211213;黏度:1.05~1.15 Pa·s);无水氯化钙(分析纯,天津市百世化工有限公司,批号:20050220B);浓盐酸(烟台远东精细化工有限公司,批号:20160310;浓度:36%~38%);5-FU 对照品(批号:20200415;纯度:100%);磷酸氢二钠(批号:20210124,纯度 $\geq$ 99%);磷酸二氢钠(批号:20200308,纯度 $\geq$ 99%)购自国药集团化学试剂有限公司;去离子水(自制)。

2 方法

2.1 载药复合物的制备

称取 ZSM-5 分子筛 50 mg,将其浸入浓度

20 mg·mL⁻¹、体积 10 mL 的 5-FU 水溶液中, 室温下于磁力搅拌器上搅拌浸渍吸附。间隔时间取样, 离心, 测量上清液吸光度, 直至吸光度不变达到平衡。离心分离所得固体在 60 °C 烘箱中干燥至恒重, 产物计作 5-FU@ZSM-5。利用紫外分光光度法在 5-FU 最大吸收波长处(265 nm)测定平衡时上清液吸光度, 根据 5-FU 水溶液的标准曲线计算上清液中 5-FU 残留量, 采用紫外差减法计算组装体中药物的质量, 并按公式(1)确定其载药率(drug loading rate, DLR)。

$$\text{DLR}(\%) = (W_1 - W_2) / W_3 \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中: W_1 为投加药物质量(mg); W_2 为游离药物质量(mg); W_3 为载药体系质量(mg)。

称取 5-FU@ZSM-5 粉末 150 mg, 将其置入压片机模具中, 在 5.0 MPa 轴向压力下制成直径为 10 mm、厚度约为 3 mm 的药片。然后, 称取 2.5 g 氯化钙粉末, 用去离子水配成质量分数为 2.5% 的氯化钙水溶液; 再称取 2.5 g ALG, 用去离子水配成质量分数为 2.5% 的 ALG 水溶胶。随后, 以浸渍提拉的方式在 5-FU@ZSM-5 药片上包覆 ALG, 同法再将浸提物在氯化钙水溶液中浸提, 提拉速度均控制在 20 cm·min⁻¹。最后, 将包覆有海藻酸钙凝胶膜的药片于常温下干燥至恒重, 所得干态片剂即为终产物, 记作 5-FU@ZSM-5@CaALG, 参照公式(1)确定其 DLR, 常温密封保存。

2.2 结构表征

利用 XRD 对样品进行物相结构鉴定; 测试条件: Cu 靶, K α 射线, λ 为 0.154 06 nm, 管压 30 kV, 管流 20 mA, 2θ 角扫描范围 5~80°, 扫描速率 0.1·s⁻¹。利用 SEM 观察样品的表观形貌; 操作电压: 15 kV。利用固体紫外-可见分光光度计测定固体的紫外-可见漫反射光谱(UV-VIS DRS); 测试条件: 室温, 波长扫描范围 220~800 nm。利用比表面及孔隙分析仪进行氮气吸附-脱附等温线测试; 条件方法: 77 K 等温测试, DFT 法分析微孔分子筛样品的孔直径及尺寸分布。利用 FT-IR 分析样品的特征官能团; 操作方法: 溴化钾压片法, 扫描范围 4 000~400 cm⁻¹。

2.3 标准曲线的测定

用电子天平精确称取干燥至恒重的 5-FU 原药标准品 20 mg 3 份, 置于 1 L 量瓶中, 分别用去离子水、pH 1.2 盐酸溶液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液(PBS)溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为 3 种储备液备用。

用刻度吸量管吸取储备液 0.5, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0, 7.5, 9.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 分别用去离子水、pH 1.2 盐酸溶液和 pH 6.8 的 PBS 稀释至刻度, 摇匀, 制成 1.0, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0, 18.0 mg·L⁻¹ 的 5-FU 对照品溶液。以相应的介质作空白对照, 用紫外分光光度计在最大吸收波长 265 nm 处测定吸光度, 以 5-FU 浓度 $C(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ 对吸光度 A 进行线性回归, 建立标准曲线方程。

2.4 载药复合物体外释药性能测定

参照中国药典 2020 年版四部制剂通则之溶出度与释放度测定法第二法, 利用药物溶出度仪评价载药复合物的体外释药性能。溶出介质为人工胃液(pH 1.2 盐酸溶液)1 000 mL, 人工肠液(pH 6.8 磷酸盐缓冲液)1 000 mL; 设置温度为(37±0.5)°C, 转速为 100 r·min⁻¹; 模拟物质在胃肠道中转运时间和胃肠 pH 梯度变换情况, 对载药复合物进行“时间-溶出介质变换”释放实验。首先, 将 150 mg 载药复合物置于人工胃液中释放 2 h, 然后, 转至人工肠液中继续释放。释放过程中定时定量取样 5 mL, 同时补加等温等体积的溶出介质, 样品用 0.025 μm 微孔滤膜滤过后以相应的溶出介质作空白对照, 测定吸光度, 根据标准曲线计算不同取样点溶出介质中药物浓度, 平行测定 3 次取均值, 并按公式(2)计算累积释放率(cumulative drug release rate, CDRR)。

$$\text{CDRR}(\%) = [C_n \times V_0 + (C_1 + C_2 + \dots + C_{n-1}) \times V] / (W \times \text{DLR}) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: V_0 为释放介质体积(L); V 为每次取样的体积(L); C_n 为第 n 个取样点的浓度(mg·L⁻¹); C_{n-1} 为第 $n-1$ 个取样点的浓度(mg·L⁻¹); W 为载药复合物质量(mg)。

3 结果

3.1 XRD 分析

5-FU 的 X 射线衍射线见图 1。由图 1 可知, 单独药物 5-FU 在 2θ 角 28.7°处出现了尖锐的高强特征衍射峰。ZSM-5、5-FU@ZSM-5 和 5-FU@ZSM-5@CaALG 的 X 射线衍射线见图 2。结果显示, 载药前后均检测到 ZSM-5 微孔分子筛晶体的特征衍射峰, 这表明药物的装载没有破坏 ZSM-5 的骨架结构。 $2\theta=7^\circ\sim 25^\circ$ 出现了五指形的 5 个特征峰, 其中: $2\theta=7^\circ\sim 10^\circ$ 的两重峰, 位于 7.97°和 8.91°, 分别对应于(101)和(020)晶面; $2\theta=22^\circ\sim 25^\circ$ 的三重峰, 位于 23.3°, 23.9°和 24.5°, 分别对应于(051)、(303)

和(133)晶面；另外， $2\theta=44^\circ\sim 46^\circ$ 的两重峰亦为ZSM-5的特征峰。这与XRD标准卡片PDF#44-0003及已报道文献结果一致，表明载药前后ZSM-5均具有典型的MFI结构^[11-13]。同时，从5-FU@ZSM-5衍射图中发现，在 28.7° 检测到5-FU的特征峰，这证实5-FU已成功组装到分子筛载体中；5-FU@ZSM-5中5-FU的峰位未发生改变，但峰强度大幅降低，这源于5-FU药物分子在ZSM-5分子筛中高度分散，衍射峰弥散^[14]。当5-FU@ZSM-5的外表面包覆CaALG聚电解质膜后，5-FU和ZSM-5的衍射峰进一步减弱。

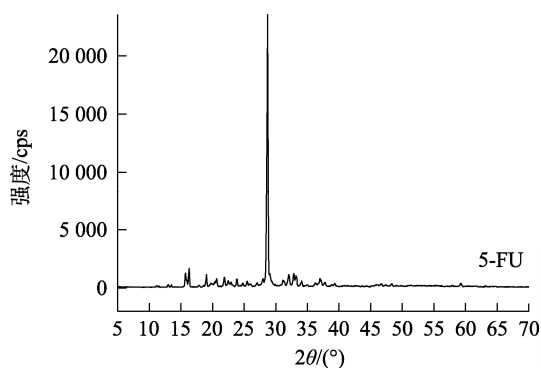


图1 5-FU的XRD谱图

Fig. 1 XRD pattern of 5-FU

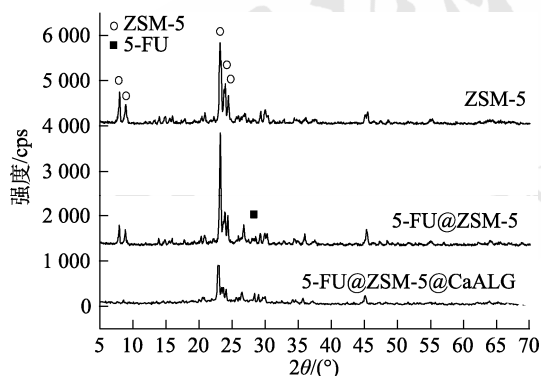


图2 ZSM-5、5-FU@ZSM-5和5-FU@ZSM-5@CaALG的XRD谱图

Fig. 2 XRD patterns of ZSM-5, 5-FU@ZSM-5 and 5-FU@ZSM-5@CaALG

3.2 UV-VIS DRS 分析

5-FU、ZSM-5、5-FU@ZSM-5及载药复合物5-FU@ZSM-5@CaALG的固体紫外-可见漫反射光谱见图3。由图3可知，ZSM-5载体在250~280 nm紫外波段产生较强的漫反射，即光吸收较弱，而5-FU固体原药在此区段漫反射极其微弱，光吸收强烈。相较5-FU固体原药，5-FU@ZSM-5组装体在265 nm峰位的漫反射有所增强、吸收有所减弱，

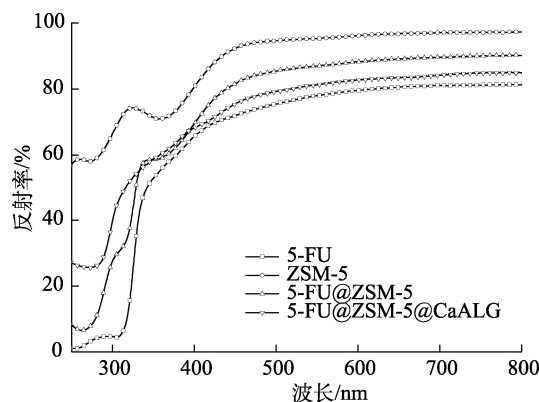


图3 5-FU、ZSM-5、5-FU@ZSM-5和5-FU@ZSM-5@CaALG的UV-VIS DRS图

Fig. 3 UV-VIS DRS spectra of 5-FU, ZSM-5, 5-FU@ZSM-5 and 5-FU@ZSM-5@CaALG

此峰的峰位与5-FU水溶液的紫外吸收峰位一致，这是由于大量的5-FU分子以单分散状态存在于ZSM-5孔道中，与5-FU在水溶液中的分散状态接近所致。5-FU@ZSM-5@CaALG载药复合物与5-FU@ZSM-5峰位一致，但漫反射进一步增强，吸收进一步减弱，这归因于CaALG裹附于5-FU@ZSM-5表面。

3.3 比表面和孔结构分析

ZSM-5分子筛的氮气吸附-脱附等温线和相应的孔径分布曲线见图4。在较低的相对压力($0 < P/P_0 < 0.1$)下，等温线从原点急剧上升，氮气的吸附量急速增加，这是由于氮气对ZSM-5分子筛微孔孔道快速物理填充，在孔壁发生单分子吸附所致。当微孔逐渐被充满，内表面逐渐失去继续吸附分子的能力，曲线上升速率逐渐减缓，进而出现近似的等温吸附平台。在较高的相对压力($0.85 < P/P_0 < 1.0$)下，等温线呈拖尾上升，这是由非微孔(中大孔和外表面上)的多层吸附所致^[15]。ZSM-5分子筛中除具有约0.6 nm的微孔孔道外，还存在少量因自身细粒子堆积而形成的0.9 nm和1.3 nm超微孔及3.1 nm介孔，等温线中伴有的迟滞环正是由于ZSM-5分子筛粒子的堆积而形成的无序介孔结构。

对比ZSM-5载体和5-FU@ZSM-5载药复合体的比表面积及孔结构数据发现，ZSM-5载药前后的比表面积分别为488.87和441.85 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ，总孔体积分别为0.19和0.15 $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ ，微孔体积分别为0.15和0.12 $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ ；显然，5-FU@ZSM-5的比表面积、总孔体积和微孔体积均显著低于ZSM-5，这表明5-FU已成功组装进入ZSM-5孔道。

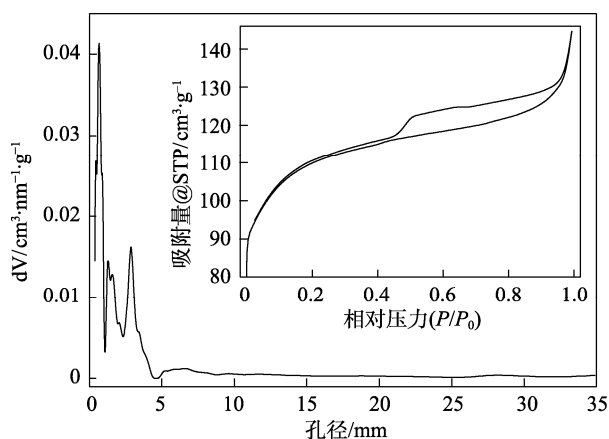


图4 ZSM-5 微孔分子筛的 N₂ 吸附-脱附等温线和 DFT 孔径分布图

Fig. 4 N₂ adsorption-desorption isotherm and the corresponding DFT pore size distribution of ZSM-5 microporous molecular sieve

3.4 SEM 分析

为进一步了解样品的表面结构,进行了扫描电镜测试,SEM 图像见图 5。由图 5 可以清晰看出,ZSM-5 载药前后的表面形貌未见明显改变,这也佐证了 5-FU 能够进入 ZSM-5 的微孔孔道。由图 5 还可发现,5-FU@ZSM-5@CaALG 表面的 CaALG 聚电解质凝胶膜具有一定的光滑度且致密严实。

3.5 FT-IR 分析

样品的 FT-IR 图谱见图 6。对于 ZSM-5 分子筛,波数位于 546.0 cm⁻¹ 的吸收峰属于 ZSM-5 沸石骨架中五元环的特征振动^[16-17],798.4,1 097.3 和 1 222.7 cm⁻¹ 的吸收峰分别归属于 TO₄ 四面体的 T-O-T(T=Si 或 Al)面外对称伸缩振动、面内反对称伸缩振动和面外反对称伸缩振动,455.1 cm⁻¹ 为内部四面体的 T-O 键(T=Si 或 Al)的弯曲振动峰,3 477.3 cm⁻¹ 为铝羟基和吸附态水羟基的伸缩振动峰,3 646.9 cm⁻¹ 为硅羟基吸收峰。

5-FU 原药在 752.1 和 813.9 cm⁻¹ 出现了 -CF=CH- 的面外变形振动峰,在 879.4 cm⁻¹ 出现了 -CF=CH- 的 C-H 面外弯曲振动峰,在 1 246.8 cm⁻¹

出现了 C-N 伸缩振动峰,在 1 429.1 cm⁻¹ 出现了 -CF=CH- 的 C-H 面内弯曲振动峰,在 1 660.5 cm⁻¹ 出现 C=O 和 C=C 伸缩振动重合峰,在 3 068.3 cm⁻¹ 出现 -NH 伸缩振动峰。

对于 5-FU@ZSM-5,除检测到 ZSM-5 的吸收峰以外,在 1 246.8,1 429.1 和 1 660.5 cm⁻¹ 等处还呈现出清晰可辨的 5-FU 特征峰,这表明 ZSM-5 载体上负载有 5-FU。而在 5-FU@ZSM-5@CaALG 图谱中,1 402.0 和 3 473.0 cm⁻¹ 处还存在 2 个吸收峰,分别对应于 CaALG 聚合物主链上羧基和羟基特征峰。

3.6 体外释药行为分析

5-FU 在去离子水、pH 1.2 人工胃液和 pH 6.8 人工肠液中的标准曲线方程分别为 ① $A=0.039\ 76C-0.002\ 52$, $R^2=0.999\ 8$; ② $A=0.053\ 35C-0.002\ 64$, $R^2=0.999\ 6$; ③ $A=0.050\ 22C+0.046\ 14$, $R^2=0.999\ 5$ 。实验发现,在去离子水和 pH 1.2 人工胃液 2 种介质中,5-FU 在 1~18.0 mg·L⁻¹ 均呈良好线性关系;在 pH 6.8 人工肠液介质中,5-FU 线性范围为 1~21.0 mg·L⁻¹。

根据标准曲线方程 ① 和公式(1)计算得出 5-FU@ZSM-5 的 DLR 为 12.1%,5-FU@ZSM-5@CaALG 的 DLR 为 11.7%。

根据标准曲线方程 ②③ 及公式(2),计算得出载药复合物 5-FU@ZSM-5@CaALG 在“时间-溶出介质变换”释放实验中的累积释药率,相应的累积释药曲线见图 7;为作对照,5-FU@ZSM-5 在相同条件下的累积释药曲线同时绘于图 7。

5-FU@ZSM-5 和 5-FU@ZSM-5@CaALG 对 5-FU 的递送能力和控释性能存在很大差异。在取测样各时间点,5-FU@ZSM-5 的释药速率均显著高于 5-FU@ZSM-5@CaALG。对于 5-FU@ZSM-5,存储于 ZSM-5 微孔孔道内的小分子药物 5-FU 能够通过“脱附-扩散”机制从孔道口释出,但其缓释和 pH 依赖行为并不明显,难以实现肠道精准定

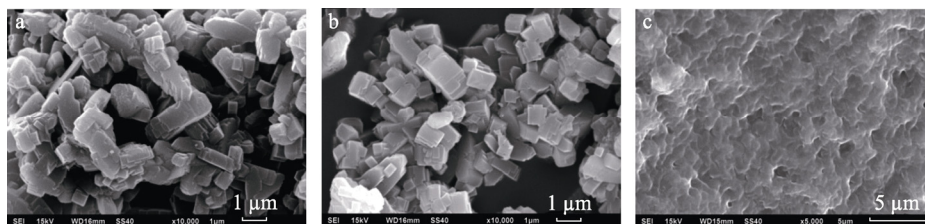


图5 ZSM-5(a)、5-FU@ZSM-5(b)和 5-FU@ZSM-5@CaALG(c)的 SEM 图像

Fig. 5 SEM images of parent ZSM-5(a), 5-FU@ZSM-5(b) and 5-FU@ZSM-5@CaALG(c)

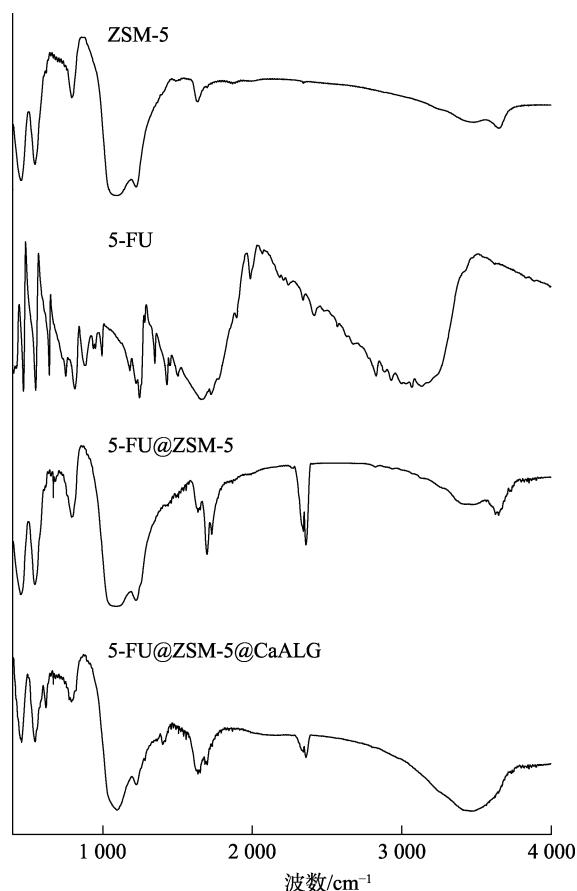


图 6 5-FU、ZSM-5、5-FU@ZSM-5 和 5-FU@ZSM-5@CaALG 的 FT-IR 谱图
Fig. 6 FT-IR spectra of 5-FU, ZSM-5, 5-FU@ZSM-5 and 5-FU@ZSM-5@CaALG

位给药。数据显示,5-FU@ZSM-5 在人工胃液中 2 h 时,5-FU 累积释放量为 47.7%;在人工肠液中 9 h 时,累积释放量为 43.1%;11 h 末,总累积释放量为 90.8%。相反,对于 5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物,表现出显著的 pH-时间双响应行为,具有特异的肠道定位给药功能,同时还兼具长效作用。数据显示,5-FU@ZSM-5@CaALG 在人工胃液中 2 h 的 5-FU 累积释放量为 9.6%,在人工肠液中 46 h 的 5-FU 累积释放量为 75.6%,48 h 末最终累积释放量为 85.2%。5-FU@ZSM-5@CaALG 在人工胃液中累积释放率<10.0%,符合中国药典 2020 年版四部通则规定的肠溶制剂体外释放度的标准要求。

4 讨论

本实验从微孔 ZSM-5 出发,成功制备了 5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物。定量分析表明其 DLR 为 11.7%,体外释放实验表明其具有显著的 pH-时间双敏感行为和良好的肠靶向性。

ZSM-5 的这种载药能力除了得益于其较大的

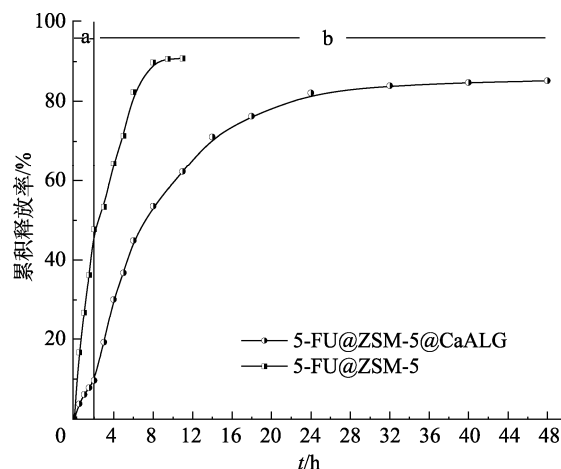


图 7 载药复合物在“时间-溶出介质变换”过程中体外累积释药率曲线

a-pH=1.2, 0~2 h; b-pH=6.8, 2~48 h。

Fig. 7 *In vitro* cumulative release rate curves of drug loaded complexes in the process of “time-dissolution medium transformation”

a-pH=1.2, 0~2 h; b-pH=6.8, 2~48 h.

比表面积,还源于其晶体骨架中含有丰富的微孔孔道。从结构上看,ZSM-5 的骨架由 2 组交叉的十元环孔道组成:一组为平行于单胞的 a 轴,呈之字形具有近似于圆形的开孔,其尺寸约为 0.54 nm×0.56 nm;另一组平行于单胞的 b 轴,为直通椭圆开口,其尺寸约为 0.52 nm×0.58 nm;这种空旷且丰富的微孔孔道允许尺寸为 4.9Å×5.3Å 的 5-FU 分子进入孔内并储存其中^[18-19]。

pH 敏感水凝胶可根据人体胃肠道环境 pH 变化而发生收缩或溶胀,以此来调控药物的释放速率。ALG 是 β -D-甘露糖醛酸(M)和 α -L-古洛糖醛酸(G)通过糖苷键连接而成的无规链状阴离子聚合物,分子结构中含有丰富的羧基和羟基。pH<4.0 时,将 ALG 加入含钙离子的介质中,钙离子将置换 ALG 大分子中的部分氢离子和钠离子并快速转化为 CaALG 分子,从而在 5-FU@ZSM-5 表面交联形成致密 CaALG 凝胶膜。在人工胃液中,由于生理环境 pH 值低于 M(3.38)和 G(3.65)单体的 pKa, CaALG 凝胶膜不溶于水、不溶胀且耐酸腐蚀^[20],可有效遏制 5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物中药物的释放,避免胃内突释现象,增强肠靶向给药能力。在人工肠液中,5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物表层的 CaALG 凝胶膜吸水溶胀后便将内部药物逐渐释放出来。pH-时间依赖型 5-FU@ZSM-5@CaALG 载药复合物的释药机制包括:5-FU 自 ZSM-5 微孔孔道内壁脱附并向孔外扩散;5-FU@ZSM-5 机械骨架片溶蚀;CaALG 凝胶

膜在人工肠液中吸水溶胀、渗透和解离等^[21-22]。通过这种综合的释药机制,不仅克服了 5-FU 在递送过程中过度流失问题,还能起到长效作用。

良好的生物黏附性有利于延长药物在肠道内的停留时间,生物黏附性与亲水官能团和黏液糖蛋白之间的氢键作用密切相关。海藻酸盐结构中含有大量亲水官能团——羧基,因而海藻酸盐作为一类阴离子黏膜黏附物,其黏附特性使其可以黏附在肠黏膜表面,借此能够延长药物的停留释放时间,以达到肠道定位治疗肠癌的效果。本研究目前仅完成体外释放实验,后期尚需开展大量的临床试验,以进一步验证二者之相关性。本实验也为其他小分子药物微孔分子筛载药体系的开发提供了一条新的路径。

REFERENCES

- [1] ADAM C, BRAY T L, PÉREZ-LÓPEZ A M, et al. A 5-FU precursor designed to evade anabolic and catabolic drug pathways and activated by Pd chemistry *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(1): 552-561.
- [2] ARAFAH A, REHMAN M U, AHMAD A, et al. Myricetin (3, 3', 4', 5, 5', 7-hexahydroxyflavone) prevents 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity[J]. *ACS Omega*, 2022, 7(5): 4514-4524.
- [3] SAYED M A, EL-ZEINY H M, KHIM J S, et al. Insight into the loading properties of Na⁺ green-functionalized clinoptilolite as a potential carrier for the 5-fluorouracil drug, its release kinetics, and cytotoxicity[J]. *ACS Omega*, 2022, 7(8): 6991-7001.
- [4] MÜLLER R H, JACOBS C, KAYSER O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(1): 3-19.
- [5] VALLET-REGI M, RÁMILA A, DEL REAL R P, et al. A new property of MCM-41: Drug delivery system[J]. *Chem Mater*, 2001, 13(2): 308-311.
- [6] YAZDANIAN M, TABESH H, HOUSHMAND B, et al. Fabrication and properties of β TCP/Zelite/Gelatin scaffold as developed scaffold in bone regeneration: *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *Biocybern Biomed Eng*, 2020, 40(4): 1626-1637.
- [7] SERATI-NOURI H, MAHMOUDNEZHAD A, BAYRAMI M, et al. Sustained delivery efficiency of curcumin through ZSM-5 nanozeolites/electrospun nanofibers for counteracting senescence of human adipose-derived stem cells[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2021(66): 102902.
- [8] YOU C Y, DENG W T, XU X L, et al. Characterization of oral colon-targeting pH-sensitive hydrogel of hydrocortisone sodium succinate and experiment about colon-targeting[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2021, 38(1): 49-54.
- [9] ZHU D F, ZHOU L L, JIANG J, et al. Research progress of complex oral colon-specific drug delivery system[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2022, 39(5): 705-709.
- [10] LAKKAKULA J R, GUJARATHI P, PANSARE P, et al. A comprehensive review on alginate-based delivery systems for the delivery of chemotherapeutic agent: Doxorubicin[J]. *Carbohydr Polym*, 2021(259): 117696.
- [11] ZHANG Q, LI C Y, XU S J, et al. Synthesis of a ZSM-5(core)/SAPO-5(shell) composite and its application in FCC[J]. *J Porous Mater*, 2013, 20(1): 171-176.
- [12] XUE H Y, MENG T, LIU F F, et al. Enhanced resistance to calcium poisoning on Zr-modified Cu/ZSM-5 catalysts for the selective catalytic reduction of NO with NH₃[J]. *RSC Adv*, 2019, 9(66): 38477-38485.
- [13] JIANG J L, DUANMU C S, YANG Y, et al. Synthesis and characterization of high siliceous ZSM-5 zeolite from acid-treated palygorskite[J]. *Powder Technol*, 2014(251): 9-14.
- [14] YANG F, WEN X, KE Q F, et al. pH-responsive mesoporous ZSM-5 zeolites/chitosan core-shell nanodisks loaded with doxorubicin against osteosarcoma[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018(85): 142-153.
- [15] GONZALEZ G, SAGARZAZU A, ZOLTAN T. Influence of microstructure in drug release behavior of silica nanocapsules[J]. *J Drug Deliv*, 2013(2013): 803585.
- [16] ZHU R, CHEN Y X, KE Q F, et al. Controlled release of core-shell ZSM-5/chitosan ellipsoids loaded with pifithrin- α for enhanced osteoinductivity[J]. *Mater Des*, 2017(122): 118-127.
- [17] KARIMINEZHAD H, HABIBI M, MIRZABABAYI N. Nanosized ZSM-5 will improve photodynamic therapy using Methylene blue[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2015(148): 107-112.
- [18] ZENG S, XU S T, GAO S S, et al. Differentiating diffusivity in different channels of ZSM-5 zeolite by pulsed field gradient (PFG) NMR[J]. *ChemCatChem*, 2020, 12(2): 463-468.
- [19] SONG G Q, XUE D, XUE J W, et al. Synthesis and catalytic characterization of ZSM-5 zeolite with uniform mesopores prepared in the presence of a novel organosiloxane[J]. *Microporous Mesoporous Mater*, 2017(248): 192-203.
- [20] LI L, WANG L L, SHAO Y, et al. Drug release characteristics from chitosan-alginate matrix tablets based on the theory of self-assembled film[J]. *Int J Pharm*, 2013, 450(1/2): 197-207.
- [21] ZHANG R, LIU L S, DENG Y B, et al. Study of calcium ion-driven drug loading for light-responsive mesoporous silica nanoparticles[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2022, 39(7): 861-867.
- [22] GRUMEZESCU A M, ANDRONESCU E, FICAI A, et al. Synthesis, characterization and *in vitro* assessment of the magnetic chitosan-carboxymethylcellulose biocomposite interactions with the prokaryotic and eukaryotic cells[J]. *Int J Pharm*, 2012, 436(1/2): 771-777.

收稿日期: 2022-08-12

(本文责编: 李艳芳)