

· 实验研究 ·

# MIL-101(Fe)/GO 复合载体的构建及其共载木犀草素-苦参碱的适宜性与缓释特性研究

沈佳捷<sup>1</sup>, 庄雪菲<sup>1</sup>, 潘林梅<sup>1,2</sup>, 陶玉泉<sup>3,4</sup>, 李柳<sup>3,4</sup>, 程海波<sup>3,4</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省经典名方工程研究中心, 江苏 南京 210023; 3. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023; 4. 江苏省中医药防治肿瘤协同创新中心, 江苏 南京 210023)

**摘要:**目的 探讨铁基金属有机框架材料 MIL-101(Fe) 与氧化石墨烯(GO)复合载体[MIL-101(Fe)/GO]共载 2 种抗肿瘤有效成分木犀草素和苦参碱的适宜性及体外释放性能。方法 采用溶剂热法制备 MIL-101(Fe) 与 MIL-101(Fe)/GO 复合载体, 采用扫描电子显微镜分析(SEM)、X 射线衍射分析(XRD)、比表面积及孔径结构分析(BET)、红外光谱分析(FT-IR)等方法进行结构表征, 采用 CCK-8 细胞实验考察 2 种载体的安全性, 采用体外溶出试验, 以 HPLC 法测定木犀草素与苦参碱在 MIL-101(Fe)/GO 中的载药量与释放量。结果 扫描电镜结果可见制得的 MIL-101(Fe)/GO 复合载体为多面体晶型结构复合体系; 细胞活力实验结果表明, 2 种载体对小鼠成纤维细胞未产生抑制。木犀草素与苦参碱在 MIL-101(Fe) 中的载药量分别为 14.1%、10.63%, 在 MIL-101(Fe)/GO 中载药量分别为 20.74%、14.1%; 体外释放实验结果表明, 在 pH=5 的条件下, MIL-101(Fe)/GO 在 72 h 内可释放出 23.92% 的木犀草素与 32.07% 的苦参碱, 而在 pH=7.4 的条件下, MIL-101(Fe)/GO 在相同时间内可释放出 8.84% 的木犀草素与 36.19% 的苦参碱。结论 MIL-101(Fe)/GO 复合载体的载药量更高, 作为 pH 响应型复合载体, 可有效实现对木犀草素的酸性 pH 响应释放及其与苦参碱的缓慢释放, 为实现多药递送持久释放的抗肿瘤药物设计提供新的思路。

**关键词:** MIL-101(Fe); 氧化石墨烯; 木犀草素; 苦参碱; 药物共载; 体外释放**中图分类号:** R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-0482(2023)03-0221-08**DOI:** 10.14148/j.issn.1672-0482.2023.0221**引文格式:** 沈佳捷, 庄雪菲, 潘林梅, 等. MIL-101(Fe)/GO 复合载体的构建及其共载木犀草素-苦参碱的适宜性与缓释特性研究[J]. 南京中医药大学学报, 2023, 39(3): 221-228.

## Construction of MIL-101(Fe)/GO Composite Carrier and Suitability and Sustained-Release Characteristics for Co-Loading Luteolin and Matrine

SHEN Jia-jie<sup>1</sup>, ZHUANG Xue-fei<sup>1</sup>, PAN Lin-mei<sup>1,2</sup>, TAO Yu-quan<sup>3,4</sup>, LI Liu<sup>3,4</sup>, CHENG Hai-bo<sup>3,4</sup>

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Province Engineering Research Center of Classical Prescription, Nanjing 210023, China; 3. The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 4. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Traditional Chinese Medicine in Prevention and Treatment of Tumor, Nanjing 210023, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the suitability and in vitro release performance of two antitumor active ingredients luteolin and matrine co-loaded with the composite carrier of iron fund organic frame material MIL-101(Fe) and graphene oxide (GO). **METHODS** MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO composite carriers were prepared by the solvothermal method. The structures were characterized by SEM, XRD, BET and FT-IR. CCK-8 cell experiments were used to investigate the safety of the two carriers. The drug loading and release of luteolin and matrine in the composite carrier were determined by HPLC. **RESULTS** The results of scanning electron microscopy showed that the MIL-101(Fe)/GO composite carrier was a polyhedral crystal structure composite system. The results of cell viability test showed that the two vectors did not inhibit mouse fibroblasts. The loading capacity of luteolin and matrine in MIL-101(Fe) were 14.1% and 10.63%, respectively; and the loading capacities of these two drugs in MIL-101(Fe)/GO were 20.74% and 14.1%, respectively. The results of in vitro release experiment showed that under the condition of pH=5, the complex carrier could release 23.92% luteolin and 32.07% matrine within 72 h, while under the condition of pH=7.4, the complex carrier could release 8.84% luteolin and 36.19% matrine within the same time. **CONCLUSIONS** MIL-101(Fe)/GO composite

**收稿日期:** 2022-09-12**基金项目:** 国家自然科学基金重点项目(81930117); 国家重点研发计划(2017YFC1700602)**第一作者:** 沈佳捷, 男, 硕士研究生, E-mail: shenjiajie6135@126.com**通信作者:** 潘林梅, 女, 教授, 主要从事中药制剂新方法研究, E-mail: linmeipan@njucm.edu.cn;

程海波, 男, 教授, 主要从事中医药防治肿瘤的研究, E-mail: hhcheng@njucm.edu.cn

carrier has higher drug loading capacity. As a pH-responsive composite carrier, it can effectively achieve the acidic pH response release of luteolin and slow release with matrine, providing a new idea for the design of anti-tumor drugs with multi-drug delivery and sustained release.

**KEYWORDS:** MIL-101(Fe); graphene oxide; luteolin; matrine; drug co-loading; *in vitro* release

仙连解毒方是由程海波教授研制用于治疗结直肠癌的有效复方,主要由仙鹤草、黄连、苦参、黄芪、薏苡仁等中药组成,具有清热化湿,祛瘀解毒,健脾益气的功效,长期临床实践发现,仙连解毒方含有丰富的抗肿瘤效应成分,它们通过不同路径作用于肿瘤细胞或微环境联合起效<sup>[1-3]</sup>,木犀草素是其中具有代表性的一种成分,大量文献报道了其显著的抗癌活性<sup>[4-6]</sup>。而木犀草素水溶性与脂溶性较差,导致透膜吸收困难,且在胃肠道中容易受到酶降解,大大降低了其口服的生物利用度,以上均限制了木犀草素的临床应用<sup>[7]</sup>。

MOFs 是一类新型智能材料,具有多孔结构,大比表面积、易于化学修饰、良好的生物相容性等特征<sup>[8]</sup>。瓦西尔骨架(MIL)作为 MOF 家族的一个重要亚类,由不同的金属元素与二羧酸配体合成,具有较大的比表面积和孔径,吸附性能良好,是已知的抗癌药物潜在载体<sup>[9]</sup>。已有大量研究报道了铁基的 MIL 系统(MIL-53、MIL-101、MIL-88、MIL-100)用于姜黄素<sup>[10]</sup>、盐酸阿霉素<sup>[11]</sup>、5-氟尿嘧啶<sup>[12]</sup>、阿司匹林<sup>[13]</sup>等抗癌药物的负载与递送。

氧化石墨烯(GO)作为另一类高性能的智能材料,具有二维薄片结构,高比表面积、较好的生物相容性等特征,是极具潜力的药物释放载体之一。但

GO 表面的高负电荷限制了其长时间的血液循环,并会导致肝脏摄取的增加。研究发现将带正电的 MOF 结合到带负电的 GO 表面,不仅可以增加渗透性保留效应,增加肿瘤细胞对复合材料的摄取,还可以抑制双方的聚集与堆叠,使结构更均匀并提供更多的有效吸附位点<sup>[14]</sup>。有研究报道<sup>[15]</sup>将 Zn-MOF 与 GO 复合,再用壳聚糖微球包裹,负载 5-氟尿嘧啶用于治疗乳腺癌,其实现了高效药物负载并成功显示出局部抗癌的效果,证明了 2 种材料复合具有协同增效的研究意义。

本研究通过尝试利用基于金属有机框架(MOF)与氧化石墨烯(GO)的复合载体负载木犀草素来提高其生物利用度并实现高效药物递送。由于木犀草素本身的酸性较强,前期实验发现 MIL-101(Fe)在该条件下会缓慢降解,为提高载体材料在负载过程中的稳定性,本研究尝试在该体系中加入复方中具有抗癌作用<sup>[16-18]</sup>的另一种成分苦参碱,在中和酸性、稳定载体的同时,也可作为另一种活性成分,以药辅合一的形式实现协同抗肿瘤作用。因此,本研究尝试选择 MIL-101(Fe),构建 MIL-101(Fe)/GO 复合载体共载木犀草素与苦参碱双药的递药体系,复合体系的构建与载药示意图见图 1。

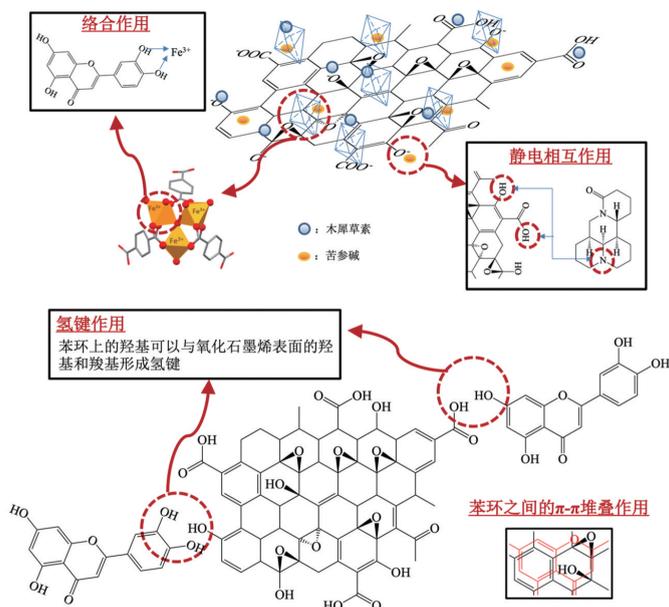


图 1 MIL-101(Fe)/GO 复合体系的构建及载药示意图

Fig. 1 Construction and drug loading diagram of MIL-101(Fe)/GO composite system

## 1 材料

### 1.1 仪器

BBA224S-CW 型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);EPE-E2-20TS 实验室级超纯水机(南京易普益达科技发展有限公司);KH-500V 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);SN-MS-6D 型磁力搅拌器(上海尚仪仪器设备有限公司);101-1B 型恒温干燥箱(绍兴市易诚仪器制造有限公司);高温反应釜(西安市雁塔区仪创实验仪器商行);MULTIFUGE X1R 型高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);THZ-C 型台式恒温振荡器(培英实验仪器有限公司);Waters e2695 高效液相色谱系统(含四元泵溶剂系统、在线脱气机和自动进样器,美国 Waters 公司);Waters 2998 型紫外检测器(PDA)(美国 Waters 公司);QUANTA 250 EFG 场发射扫描电镜(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);D8 Advance X 射线衍射仪(美国 Bruker 公司);JW-BK200B 比表面积与孔径分析仪(北京精微高博科学技术有限公司);Nicolet IS5 红外分光光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

### 1.2 试剂

六水三氯化铁( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,批号:C12592123,纯度:99%,上海麦克林生化科技有限公司);对苯二甲酸(批号:C12673685,纯度:99%,上海麦克林生化科技有限公司);*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF,批号:C2221123,色谱纯,上海阿拉丁试剂有限公司);试剂级氧化石墨烯粉末(批号:JCGO-1-2,南京吉仓纳米科技有限公司);无水乙醇(分析纯,沪试);木犀草素(批号:L2104085,纯度:98%,上海阿拉丁试剂有限公司);苦参碱(批号:FYL39S1019,纯度:98%,南通飞宇生物科技有限公司);甲醇(色谱纯,Merck);乙腈(色谱纯,Merck);甲酸(分析纯,上海阿拉丁试剂有限公司);磷酸(分析纯,沪试);三乙胺(分析纯,沪试);吐温-80(批号:222F011,北京索莱宝科技有限公司)。CCK-8 试剂盒(批号:CT01A,广州赛库生物技术有限公司);DMEM 高糖培养基(批号:C11995500BT,Thermo Fisher Scientific);胎牛血清(批号:BC-SE-FBS01,南京生航生物

技术有限公司);青链霉素混合液(批号:P1400,北京索莱宝科技有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 制备

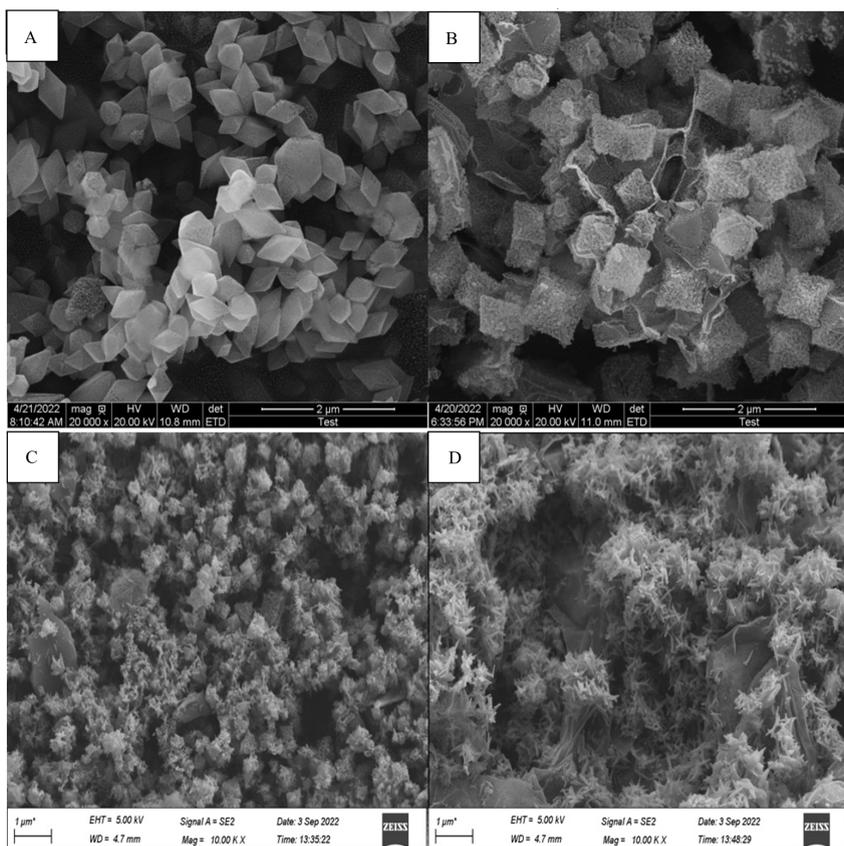
2.1.1 MIL-101(Fe)的制备 采用溶剂热法<sup>[19]</sup>制备:精密称取  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (1.461 g, 5.41 mmol) 溶解于 30 mL DMF 中,加入对苯二甲酸(0.438 3 g, 2.64 mmol),充分搅拌 30 min 使其溶解,再将混合溶液转移至聚四氟乙烯的内胆中装入反应釜 110 °C 反应 16 h,冷却后取出,5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 10 min,再用 DMF 和无水乙醇交替洗涤各 3 次,最后置于 110 °C 烘箱中活化 10 h,即得,最终产物为黄色固体。

2.1.2 MIL-101(Fe)/GO 的制备 采用溶剂热法<sup>[19]</sup>制备:精密称取  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (1.461 g, 5.41 mmol) 溶解于 10 mL DMF 中,加入对苯二甲酸(0.438 3 g, 2.64 mmol),充分搅拌 30 min 使其溶解,作为溶液 A;精密称取 73.05 mg 氧化石墨烯粉末,加入 20 mL DMF,冰水超声 30 min 使分散,作为溶液 B,将溶液 A 与溶液 B 混合搅拌 30 min 后,转移至反应釜中 110 °C 反应 24 h,后续步骤同 2.1.1 项下,最终产物为灰黑色固体。

2.1.3 载药体系的制备 分别精密称取木犀草素(10 mg, 34.9  $\mu\text{mol}$ ) 与苦参碱(10 mg, 40.26  $\mu\text{mol}$ ) 溶解于 10 mL 的无水乙醇中,再分别精密称取 2 种载体各 10 mg,加入其中,搅拌 2 h 后,5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 10 min,沉淀用无水乙醇洗涤 3 次以去除未被负载的游离药物,置于 50 °C 烘箱中干燥,即得,最终产物为灰黑色固体。

### 2.2 结构表征

2.2.1 扫描电子显微镜分析(SEM) 取新鲜制备的 MIL-101(Fe) 与 MIL-101(Fe)/GO 进行 SEM 检测,结果如图 2A~B 所示。可见明显的八面体锥形结构<sup>[20]</sup>,而 MIL-101(Fe)/GO 可见大小均匀的八面体结构分散在片层 GO 表面,以上结果从形态上表明成功制备了 MIL-101(Fe) 与 MIL-101(Fe)/GO。2 种载体载药后的表面形貌如图 1C~D 所示,可见药物负载于载体表面的显著结构。



注:A. MIL-101(Fe);B. MIL-101(Fe)/GO;C. MIL-101(Fe)/木犀草素/苦参碱;D. MIL-101(Fe)/GO/木犀草素/苦参碱

图 2 扫描电子显微镜下 MIL-101(Fe) 与 MIL-101(Fe)/GO 及两者载药后的微观图

Fig. 2 Micrographs of MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO and drug loaded compounds under scanning electron microscopy

2.2.2 X 射线衍射分析(XRD) 取新鲜制备的 MIL-101(Fe)、MIL-101(Fe)/GO 与原材料 GO 进行 XRD 检测,结果如图 3 所示。MIL-101(Fe) 在  $9.53^\circ$ 、 $12.69^\circ$ 、 $16.32^\circ$ 、 $19.39^\circ$ 、 $22.16^\circ$  处均出现了较明显的吸收峰,这些强度较高的衍射峰与密勒指数 220、311、511、852、753 相对应<sup>[21-22]</sup>,表明成功制备 MIL-101(Fe),且所制备的载体具有较高的结晶度。纯 GO 仅在  $11.49^\circ$  处出现单一的衍射峰,是由于其为片层非晶体结构材料。将 GO 与 MIL-101(Fe) 复合后,可见原本对应 MIL-101(Fe) 晶体结构的衍射峰强度明显降低,且未显示出 GO 的特征衍射峰,可能是由于 GO 的少量加入在体系中影响了部分 X 射线的衍射,而其本身与 MIL-101(Fe) 的复合导致原有特征峰的消失。

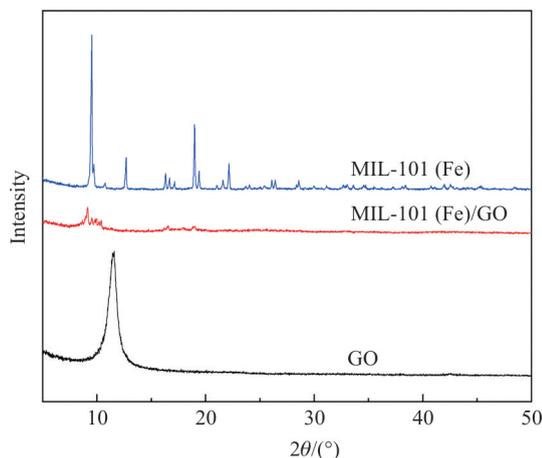


图 3 MIL-101(Fe)、MIL-101(Fe)/GO 与 GO 的 XRD 谱图

Fig. 3 XRD patterns of MIL-101(Fe), MIL-101(Fe)/GO and GO

2.2.3 比表面积及孔径结构分析(BET) 取新鲜制备的 MIL-101(Fe)、MIL-101(Fe)/GO 进行 BET

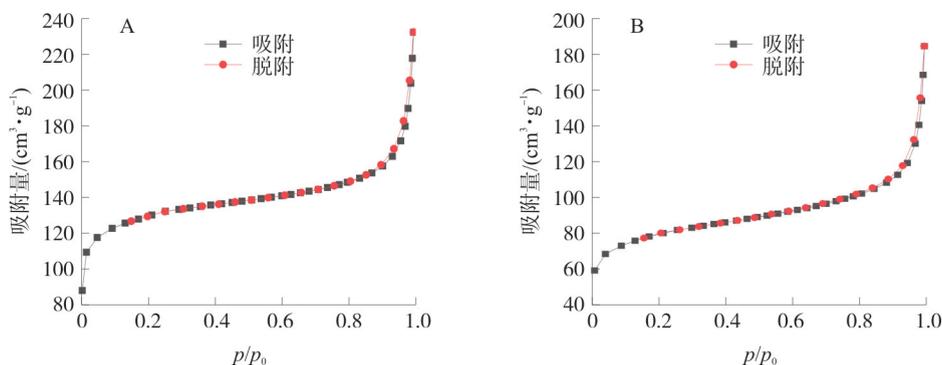
测试,分别使用 Brunauer-Emmett-Teller 和 Barrett-Joyner-Halenda 方法计算以上 2 种材料的比表面积、孔径与孔体积(表 1)。由于体系中的苦参碱熔点较低,而在实际测试过程中脱气温度过低则无法得到准确的结果,因此 BET 实验中未单独测试载药后的样品。MIL-101(Fe)、MIL-101(Fe)/GO 的氮气吸附-脱附等温曲线图如图 4A~B 所示,孔径分

布图如图 5 所示。结果显示,所制备的 MIL-101(Fe)存在典型的介孔结构,且孔径分布相对均匀。MIL-101(Fe)/GO 的比表面积与孔体积稍有减小,可能是因为 GO 具有平面结构,而不具有类似 MOF 的孔结构,两者的复合降低了单位质量复合材料中孔的数量,导致比表面积与平均孔体积有所减少。以上结果与 XRD 结果也保持一致。

表 1 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)/GO 的比表面积与孔结构参数

Table 1 Specific surface area and pore structure parameters of MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO

材料	BET 比表面积/( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )	Langmuir 表面积/( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )	孔容/( $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ )	孔径/nm
MIL-101(Fe)	487.485	527.306	0.344	2.819
MIL-101(Fe)/GO	292.930	307.173	0.268	3.657



注:A. MIL-101(Fe);B. MIL-101(Fe)/GO

图 4 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)/GO 的吸附-脱附等温曲线

Fig. 4 Adsorption-desorption isotherm curves of MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO

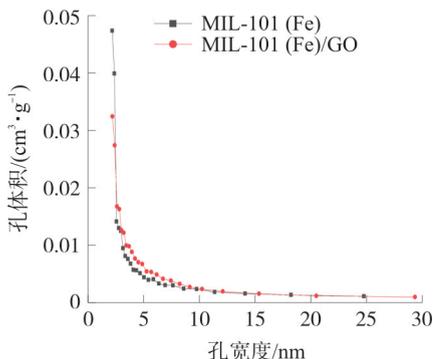


图 5 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)/GO 的孔径分布

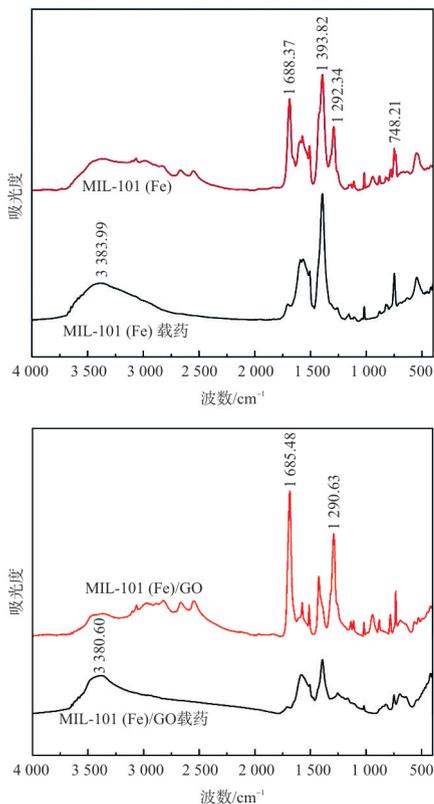
Fig. 5 Pore size distributions of MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO

2.2.4 红外光谱分析(FT-IR) 将所制备的载体样品研磨至细粉状,在  $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$  的波数下进行扫描测试,结果如图 6 所示,其中图 6A 为 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)载药后的红外光谱图。MIL-101(Fe)的特征峰位于  $748$ 、 $1018$ 、 $1292$ 、 $1394$ 、 $1688$ 。其中,峰  $748 \text{ cm}^{-1}$  对应 C—H 键, $1688 \text{ cm}^{-1}$  源自对苯二甲酸中苯环对位 2 个羧基中的 C=

O 键, $1018 \text{ cm}^{-1}$  对应结构中的 C—O—C, $1394 \text{ cm}^{-1}$  可能对应 MIL-101(Fe) 结构中开放的铁离子金属中心与羧基的连接;载药后可见明显的特征峰变化,原本  $1688 \text{ cm}^{-1}$  对应羰基的特征峰消失可能是由于木犀草素的结合。木犀草素具有黄酮母核结构,又称 3',4',5,7-四羟基黄酮,其中 3 位的羰基与 5 位的酚羟基及 3'和 4'位的邻二酚羟基可与金属中心的  $\text{Fe}^{3+}$  发生结合。 $3384 \text{ cm}^{-1}$  特征峰的出现也证明可能有分子间氢键的产生。

图 6B 为 MIL-101(Fe)/GO 与 MIL-101(Fe)/GO 载药后的红外光谱图,部分特征峰与 A 图中表现一致。对应 C=O 的  $1685 \text{ cm}^{-1}$ ,在药物负载后同样发生了消失, $3380 \text{ cm}^{-1}$  处也出现了特征吸收峰,此外 MIL-101(Fe)/GO 与 MIL-101(Fe)相比,特征峰也发生了细微的变化,如  $1394 \text{ cm}^{-1}$  处峰的消失与  $1425 \text{ cm}^{-1}$  处峰的出现等,GO 表面有大量的含氧官能团,可以与 MIL-101(Fe) 结构中的羧基发生反应,最终导致该峰的消失。以上结果可以初步证明 GO 与 MIL-101(Fe) 的成功复合以及药物的成功负

载。



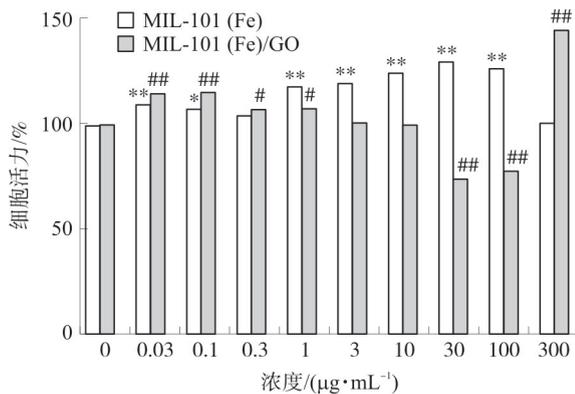
注: A. MIL-101(Fe); B. MIL-101(Fe)/GO

图 6 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)/GO 及两者载药后的红外光谱图

Fig. 6 Infrared spectra of MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO before and after drug loading

### 2.3 细胞活力测定

采用 CCK-8 法进行细胞活力测试。首先,配制含 10%胎牛血清与 1%青链霉素的 DMEM 高糖培养基,将适量小鼠成纤维细胞分散其中,并按照  $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$  的密度接种到 96 孔板中,12 h 后将培养基更换为 200  $\mu\text{L}$  浓度分别为 0、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100、300  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的新鲜药物培养基混合液,再培养 24 h。使用 PBS 将细胞洗涤 2 次后,加入含有 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 溶液的 110  $\mu\text{L}$  新鲜培养基,孵育 3 h,于 450 nm 波长下检测吸光度,并计算不同组别的细胞活力(%),结果如图 7, MIL-101(Fe) 在各个浓度下均未表现出对成纤维细胞的毒性,而 MIL-101(Fe)/GO 在高浓度下对成纤维细胞表现出较弱的抑制作用,推测与复合体系中 GO 量的增加有关。此外,2 种药物在高浓度下对细胞活力的作用结果相较于空白组均具有显著性差异。综合来看,所制备的 2 种载体均具有一定的安全性。



注:与 MIL-101(Fe)空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与 MIL-101(Fe)/GO 空白组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 。

图 7 不同浓度的 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)/GO 对成纤维细胞活力的影响

Fig. 7 Effects of MIL-101(Fe) and MIL-101(Fe)/GO at different concentrations on fibroblast viability

### 2.4 载药量的测定

2.4.1 苦参碱色谱条件 色谱柱:Hedera ODS-2  $C_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈(A):0.1%磷酸与 0.05%三乙胺水(B)=10:90,等度洗脱,流速 0.8  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;检测波长 220 nm;柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

2.4.2 木犀草素色谱条件 色谱柱:Hedera ODS-2  $C_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ );流动相:甲醇(A):0.1%甲酸水(B),梯度洗脱条件:0~15 min,45%~56%A;15~23 min,56%~60%A;23~25 min,60%~80%A;25~27 min,80%~45%A,流速 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;检测波长 349 nm;柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

2.4.3 供试品溶液的制备 根据“2.1.3”项下操作,各取母液与离心后的上清液 1.0 mL,加入等量无水乙醇稀释 1 倍,混匀,即得。

2.4.4 对照品溶液的制备 分别精密称取等量苦参碱与木犀草素对照品适量,加入无水乙醇配置成浓度分别为 30、75、150、225、300、450、600、750  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液,即得。

2.4.5 标准曲线的绘制 将“2.1.4”项下的对照品溶液过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,按照上述液相条件进行测定,以峰面积(A)为纵坐标,浓度(C)为横坐标绘制标准曲线,苦参碱与木犀草素的标准曲线分别为  $A = 6 \times 10^6 C + 25\ 803$  ( $R^2 = 0.999\ 9$ )、 $A = 4 \times 10^7 C - 144\ 119$  ( $R^2 = 0.999\ 6$ )。

2.4.6 载药量结果 分别将 MIL-101(Fe)与 MIL-101(Fe)/GO 两组的供试品溶液按照相同操作

进行液相分析,根据标准曲线计算浓度与药量,根据下述公式计算实际载药量。结果如表 2 所示。MIL-101(Fe)/GO 由于 GO 的复合,相比于 MIL-101(Fe),使木犀草素的负载量得到了明显的提高。载药量(%) = [(投入总量-游离量)/载体质量] × 100%。

表 2 2 种材料载药量(%)

Table 2 The drug load of two material(%)

载体组别	木犀草素	苦参碱
MIL-101(Fe)	14.68	10.63
MIL-101(Fe)/GO	20.74	14.10

## 2.5 释放量的测定

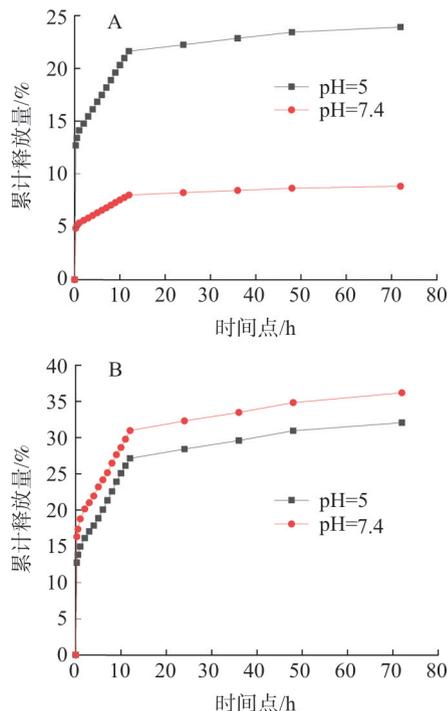
采用体外扩散法进行体外药物释放研究。精密称取 20 mg MIL-101(Fe)/GO/木犀草素/苦参碱 2 份,分别加入 20 mL pH = 5 和 7.4 的 1%吐温 80 的 PBS 缓冲溶液,于磁力搅拌器上 37 °C 恒温搅拌,分别在第 0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12、24、48、72 h 取样 1 mL,并加入 1 mL 无水乙醇稀释,释放体系中补加等温等量的中间体分散溶液,样品过微孔滤膜,测定含量,并根据下述公式计算两药的累积释放度。结果如图 8 所示,在 pH = 5 的酸性条件下, MIL-101(Fe)/GO 在 72 h 内可释放出 23.92% 的木犀草素与 32.07% 的苦参碱,而在 pH = 7.4 的中性条件下,相同时间内释放出 8.84% 的木犀草素与 36.19% 的苦参碱,这与酸性条件下,木犀草素与 MOF 中心铁离子络合键的断裂相关。而苦参碱在酸性和中性条件下的释放并未表现出显著差别,这可能和其并未与载体间形成氢键或络合键相关。

$$W = (C_n V_n + \sum C_i V_i) / M$$

$C_{n(i)}$  为第  $n(i)$  个取样时间点的药物浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $V_n$  为释放介质总体积 (25 mL),  $V_i$  为第  $i$  次取样体积 (1 mL),  $M$  为总药量 (mg)。

## 3 讨论

MOFs 作为新颖的功能性有机无机复合材料,因其比表面积与孔体积大、易修饰与功能化的表面性质、生物相容性好等特点有望被广泛应用于中药单体成分的负载与运输。GO 作为石墨烯的衍生物之一,具有稳定的片状结构,表面具有丰富的含氧官能团,同样具有高比表面积和易于修饰的特点。MOF 与 GO 的结合有望解决二者的聚集堆叠问题而提供更多的活性位点<sup>[17]</sup>。



注:A. 木犀草素;B. 苦参碱

图 8 2 种成分的累积释放结果

Fig. 8 The cumulative release of two components

本实验通过溶剂热法合成反应将 MIL-101(Fe)与 GO 复合用于负载木犀草素与苦参碱,木犀草素中酚羟基与 GO 表面的含氧官能团形成氢键,其苯环中的邻二酚羟基还可以和 MIL-101(Fe) 开放的铁离子中心形成络合,此外,苯环与苯环之间的  $\pi-\pi$  堆叠作用也赋予木犀草素与 MIL-101(Fe)/GO 更多的结合可能,而苦参碱由于静电相互作用可以与氧化石墨烯表面带负电的官能团相互吸引而实现负载。同时将 MIL-101(Fe)/GO 与 MIL-101(Fe) 单独载药进行比较。SEM、XRD 结果显示,成功制备的具有较高品质的 MIL-101(Fe) 与 MIL-101(Fe)/GO,具有完整的晶体结构。FT-IR 结果也能说明 MIL-101(Fe)/GO 的成功合成与药物的成功负载。2 种载体对成纤维细胞的作用结果表明其具有一定的安全性。此外,还初步验证了 MIL-101(Fe)/GO 用于同时负载中药单体活性成分苦参碱与木犀草素的适宜性,复合载药体系可以实现更高的负载量。体外释放实验结果显示,复合载药体系表现出 pH 响应型释放性质,能在酸性条件下释放出更多的木犀草素,并实现对两药的缓释作用。后续还需通过细胞与动物实验进一步验证其抗肿瘤作用。

本研究借助合成新材料的特殊功能,提高抗肿

瘤中药成分的生物利用度,并探索药辅合一的模式制备具有协同作用的中药抗肿瘤活性成分复合递药系统,为进一步的药效研究提供基础。

#### 参考文献:

- [1] 张钦涛,程海波,余成涛,等. 仙连解毒方对结直肠癌湿热热毒证模型小鼠肠道细胞类型的影响[J]. 中医杂志, 2022, 63(5): 461-467.  
ZHANG QC, CHENG HB, YU CT, et al. Effect of Xianlian Jiedu formula on intestinal cell types in colorectal cancer model mice with damp-heat stasis toxin pattern[J]. J Tradit Chin Med, 2022, 63(5): 461-467.
- [2] 王启娟,沈卫星,姜瑞阳,等. 仙连解毒方维持肿瘤相关血管内皮细胞稳态抑制肿瘤血管新生的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8): 86-92.  
WANG QJ, SHEN WX, JIANG RY, et al. Mechanism of Xianlian Jiedu prescription in maintaining cancer relative vascular endothelial cell homeostasis and inhibiting tumor neovascularization[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(8): 86-92.
- [3] 陶李蕙苹,赖岳阳,程海波,等. 仙连解毒方对人结肠癌细胞增殖及糖酵解的调控作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8): 72-78.  
TAO LHP, LAI YY, CHENG HB, et al. Effect of Xianlian Jiedu prescription on proliferation and glycolysis of human colorectal cancer HCT-116 cells and mechanism[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(8): 72-78.
- [4] JIANG ZB, WANG WJ, XU C, et al. Luteolin and its derivative apigenin suppress the inducible PD-L1 expression to improve anti-tumor immunity in KRAS-mutant lung cancer[J]. Cancer Lett, 2021, 515: 36-48.
- [5] LIU Y, LANG TY, JIN BW, et al. Luteolin inhibits colorectal cancer cell epithelial-to-mesenchymal transition by suppressing CREB1 expression revealed by comparative proteomics study[J]. J Proteom, 2017, 161: 1-10.
- [6] QING WX, XING XY, FENG DF, et al. Indocyanine green loaded pH-responsive bortezomib supramolecular hydrogel for synergistic chemo-photothermal/photodynamic colorectal cancer therapy[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2021, 36: 102521.
- [7] 姚薛超,宁洪鑫,黄欢,等. 木犀草素制剂的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(3): 873-882.  
YAO XC, NING HX, HUANG H, et al. Research progress on pharmaceutical preparation of luteolin[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(3): 873-882.
- [8] GE XY, WONG R, ANISA A, et al. Recent development of metal-organic framework nanocomposites for biomedical applications[J]. Biomaterials, 2022, 281: 121322.
- [9] ZHANG HY, ZHANG J, LI Q, et al. Site-specific MOF-based immunotherapeutic nanoplatfroms via synergistic tumor cells-targeted treatment and dendritic cells-targeted immunomodulation[J]. Biomaterials, 2020, 245: 119983.
- [10] KARIMI ALAVIJEH R, AKHBARI K. Biocompatible MIL-101 (Fe) as a smart carrier with high loading potential and sustained release of curcumin[J]. Inorg Chem, 2020, 59(6): 3570-3578.
- [11] BHATTACHARJEE A, GUMMA S, PURKAIT MK. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> promoted metal organic framework MIL-100(Fe) for the controlled release of doxorubicin hydrochloride[J]. Microporous Mesoporous Mater, 2018, 259: 203-210.
- [12] XIE W, ZHOU FY, LI X, et al. A surface architected metal-organic framework for targeting delivery; Suppresses cancer growth and metastasis[J]. Arab J Chem, 2022, 15(3): 103672.
- [13] SINGCO B, LIU LH, CHEN YT, et al. Approaches to drug delivery: Confinement of aspirin in MIL-100(Fe) and aspirin in the *de novo* synthesis of metal-organic frameworks[J]. Microporous Mesoporous Mater, 2016, 223: 254-260.
- [14] GHAREHDAGHI Z, RAHIMI R, NAGHIB SM, et al. Cu(II)-porphyrin metal-organic framework/graphene oxide: Synthesis, characterization, and application as a pH-responsive drug carrier for breast cancer treatment[J]. J Biol Inorg Chem, 2021, 26(6): 689-704.
- [15] POORESMAEIL M, ASL EA, NAMAZI H. A new pH-sensitive CS/Zn-MOF@GO ternary hybrid compound as a biofriendly and implantable platform for prolonged 5-Fluorouracil delivery to human breast cancer cells[J]. J Alloys Compd, 2021, 885: 160992.
- [16] GU C, LU HG, QIAN ZH. Matrine reduces the secretion of exosomal circSLC7A6 from cancer-associated fibroblast to inhibit tumorigenesis of colorectal cancer by regulating CXCR5[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 527(3): 638-645.
- [17] GU YY, CHEN MH, MAY BH, et al. Matrine induces apoptosis in multiple colorectal cancer cell lines *in vitro* and inhibits tumour growth with minimum side effects *in vivo* via Bel-2 and caspase-3[J]. Phytomedicine, 2018, 51: 214-225.
- [18] CHEN MH, GU YY, ZHANG AL, et al. Biological effects and mechanisms of matrine and other constituents of *Sophora flavescens* in colorectal cancer[J]. Pharmacol Res, 2021, 171: 105778.
- [19] 张清云. MOFs/GO 复合材料的制备及其结构和性能研究[D]. 西安: 西安科技大学, 2020.  
ZHANG QY. Preparation of MOFs/GO composite materials and study on structure properties[D]. Xi'an: Xi'an University of Science and Technology, 2020.
- [20] GORDON J, KAZEMIAN H, ROHANI S. MIL-53(Fe), MIL-101, and SBA-15 porous materials: Potential platforms for drug delivery[J]. Mater Sci Eng C, 2015, 47: 172-179.
- [21] LI ZC, LIU XM, JIN W, et al. Adsorption behavior of arsenicals on MIL-101(Fe): The role of arsenic chemical structures[J]. J Colloid Interface Sci, 2019, 554: 692-704.
- [22] MINH THANH HT, THU PHUONG TT, LE HANG PT, et al. Comparative study of Pb(II) adsorption onto MIL-101 and Fe-MIL-101 from aqueous solutions[J]. J Environ Chem Eng, 2018, 6(4): 4093-4102.

(编辑:杨巍敏)