

荧光光谱法研究左氧氟沙星与 MCM-41 的相互作用

曹 渊^{1,2}, 袁庆华¹, 夏之宁^{1,2*}, 徐彦芹¹, 白英豪¹

1. 重庆大学化学化工学院, 重庆 400030

2. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400030

摘 要 采用微波辅助水热法制备介孔分子筛 MCM-41, 并用浸渍法将左氧氟沙星(LVFX)组装在 MCM-41 均一的六方形孔道中, 制备出新型载药复合物 LVFX/MCM-41。用粉末 X 射线衍射(XRD)、低温氮吸附、傅里叶变换红外光谱(FTIR)及差热-热重(TGA-DTA)分析对 MCM-41 以及 LVFX/MCM-41 复合物进行表征, 合成的介孔分子筛 MCM-41 的孔径为 2.382 nm, 比表面积为 $1\ 015\ \text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 。对 MCM-41、LVFX/MCM-41、LVFX(固态)及 LVFX(溶液)的荧光光谱研究结果显示, LVFX/MCM-41 的荧光光谱比组装前发生明显红移, 表明 MCM-41 孔道内表面的羟基和 LVFX 形成氢键, 羟基上的电子云向 LVFX 分子上的吸电子基团转移; 同时 MCM-41 和 LVFX 之间形成新环, 使电子云能在更大的环上移动, 药物分子的共轭体系扩大, 荧光光谱峰红移。MCM-41 与左氧氟沙星之间强的相互作用为研发以 MCM-41 为载体的新型释药系统提供了理论依据。

关键词 MCM-41; 复合物; 荧光光谱; 红移; 相互作用

中图分类号: O657.3, R978.1 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)09-2527-04

引 言

MCM-41 是上世纪 90 代出现的一种新型多孔材料^[1,2], 具有均一可调的介孔(2~30 nm)孔道、稳定的骨架结构、较大的比表面积($>1\ 000\ \text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), 以及易于修饰的内表面, 是各种客体分子的理想载体。迄今, 人们已对 MCM-41 用于装载各种药物或是生物大分子, 制成缓释^[3~6]、控释^[7]、靶向释药体系^[8]作了大量研究, 但这些研究主要集中在材料的制备、表征及载药释药速率等方面, 很少对不同药物分子和 MCM-41 孔道内活性基团的相互作用作深入研究。本文将具有荧光的广谱抗菌药左氧氟沙星封装在介孔分子筛 MCM-41 中, 通过封装前后药物荧光, 分子筛 MCM-41 荧光位移强度的变化研究分子筛和药物分子基团的相互作用, 为阐明 MCM-41 的载药释药机理, 设计研发以 MCM-41 为载体的左氧氟沙星新药物剂型提供依据。

1 实验部分

1.1 实验仪器和试剂

主要仪器为温控式微波化学反应器 TCMC-204(南京凌江科技开发有限责任公司), D/MAX-III CX 放射线衍射仪(日本理光公司), AUTOSORB-1 氮吸附分析仪(美国迈克公司), 5DX, 550 II 型傅里叶红外光谱分析仪器(美国尼高力公司), RF5301 荧光仪(日本岛津), DTG-60H 型差热热重分析仪(德国 NETZSCH 公司), KXX-5-12A 型马弗炉。

主要试剂: Na_2SiO_3 , 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB), 左氧氟沙星, 1,3,5-三甲基苯(TMB)。

1.2 MCM-41 的微波合成

将 3.64 g CTAB 溶于 120 mL 蒸馏水中, 室温搅拌至澄清, 缓慢加入 4.2 mL TMB 继续搅拌 0.5 h, 之后向溶液中缓慢加入 21.42 g Na_2SiO_3 , 搅拌 2 h, 用 $2\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸调节 pH 10。将溶液放入 TCMC-204 型温控式微波化学反应器中, 成核过程设置微波功率为 300 W, 成核温度 $120\ ^\circ\text{C}$, 温度爬坡时间为 5 min, 在 $120\ ^\circ\text{C}$ 下保持 15 min; 结晶过程设置微波功率为 60 W, 结晶温度为 $100\ ^\circ\text{C}$, 降温时间 5 min, 在 $100\ ^\circ\text{C}$ 下保持 25 min, 将所得产物静置冷却, 真空抽滤, 洗涤, 在 $100\ ^\circ\text{C}$ 的恒温干燥箱内干燥一夜。将得到的白色粉末放入马弗炉中, 在 $550\ ^\circ\text{C}$ 煅烧 6 h, 得到 MCM-41。

1.3 左氧氟沙星和 MCM-41 的组装

收稿日期: 2008-03-28, 修订日期: 2008-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(207759096)和科技部国际合作项目(2006DFA43520)资助

作者简介: 曹 渊, 1963 年生, 重庆大学化学化工学院副教授 e-mail: CaoYuan@cqu.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: chem_lab_cqu@yahoo.com.cn

称取 5 g LVFX 溶于 30 mL 的蒸馏水中, 加入 5 g MCM-41, 室温下搅拌 24 h, 以 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 40 min。用蒸馏水洗涤沉淀, 过滤, 在 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下减压真空干燥 24 h, 得到淡黄色固体粉末。

1.4 表征

X 射线粉末衍射测试靶材为 $\text{CoK}\alpha$, 管电压为 35 kV, 管电流 35 mA, 扫描速度 $2^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$, 扫描范围 $2\theta=2^{\circ}\sim 10^{\circ}$ 。氮吸附脱附实验, 用样品称重 0.112 3 g, 总重 56.664 7, 气温度 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, 77 K(液氮)下测定, 用 BJH 法计算分析结果。傅里叶红外光谱采用 KBr 压片法, 在 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 范围扫描。差热—热重测定范围为 $35\sim 800\text{ }^{\circ}\text{C}$, 升温速率 $10\text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$, 测定气氛为高纯氮气, 气流量为 $20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

1.5 荧光光谱测定

左氧氟沙星溶液, 浓度为 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, pH 4.0; $\lambda_{\text{em}}=294\text{ nm}$, $\lambda_{\text{ex}}=496\text{ nm}$, 狭缝宽度为 10 nm。固体荧光激发波长为 $\lambda_{\text{em}}=300\text{ nm}$, 测定 MCM-41 时, Ex 狭缝=5 nm 和 Em 狭缝=5 nm, 测定其余固体样品时, 狭缝均为 Ex=3 nm, Em=1.5 nm。

2 结果与讨论

2.1 MCM-41 的表征

2.1.1 XRD 分析和氮吸附分析

如表 1 所示, 在 $2\theta=3$ 有一个较强峰(100 峰), 且在 $2\theta=5\sim 6$ 分别出现衍射峰(110, 200 峰), 与文献[9]一致, 表明样品为介孔分子筛 MCM-41。MCM-41 的晶胞参数为 $a_0=2d_{100}/\sqrt{3}$, a_0 值见表 1。

Table 1 Crystallographic parameters and structural characteristics of the MCM-41

MCM-41 (hkl)	2θ	d /(nm)	a_0	孔体积 /($\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$)	孔尺寸 /nm	比表面积 /($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)
d_{100}	2.959	3.467	4.0	0.810	2.382	1 015
d_{110}	4.929	20.802				
d_{200}	5.730	18.198				

MCM-41 的氮吸附脱附分为三个阶段, 在 $P/P^0(>0.4)$ 区域有一个滞后环, 是介孔材料的典型特征, 起源于 N_2 在孔道中的毛细凝聚, 孔参数见表 1。

2.1.2 FTIR 分析

如图 1a 所示, $3\,460\text{ cm}^{-1}$ 的宽峰和 $1\,640\text{ cm}^{-1}$ 分别为 MCM-41 表面的—OH 的伸缩振动峰、弯曲振动峰; 而 $1\,080\text{ cm}^{-1}$ 强而宽峰和 803 和 465 cm^{-1} 的峰分别是 Si—O—Si 键的反对称伸缩振动、对称伸缩振动和弯曲振动峰, 969 cm^{-1} 出现的小峰由—Si—OH 振动引起, 与 Jiang 等[10]测得的 MCM-41 峰位置一致。b 是 LVFX 的红外光谱, $3\,442.6\text{ cm}^{-1}$ 强而宽峰、 $1\,709\text{ cm}^{-1}$ 强峰由羧酸引起, $2\,925, 2\,855, 1\,472\text{ cm}^{-1}$ 是— CH_2 振动峰, $1\,300\sim 910\text{ cm}^{-1}$ 是单键的伸缩振动、分子骨架振动, 910 cm^{-1} 以下是苯环取代引起的振动峰。比较 c 与 a、b 可知, 组装体 LVFX/MCM-41 的红外吸

收和 MCM-41 极为相似, LVFX 的部分基团也出现在谱图上。如 $2\,931.3, 1\,472.5, 1\,384.7\text{ cm}^{-1}$ 均是— CH_2 引起的振动峰, $562.5, 475.5, 451.5\text{ cm}^{-1}$ 的 LVFX 分子振动峰也出现在组装体上, 表明 LVFX 分子已经组装到分子筛孔道中。

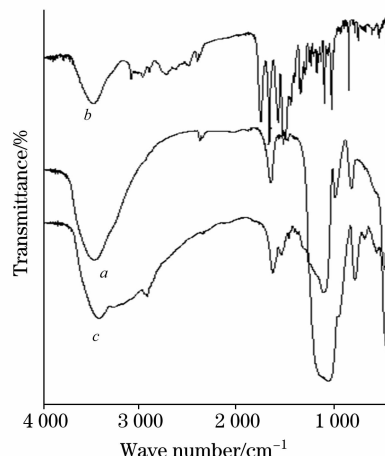


Fig. 1 FTIR spectra of MCM-41 a, LVFX b, LVFX/MCM-41 c

组装体 LVFX/MCM-41 相比 MCM-41 和固态 LVFX 主要峰的位移见表 2。在组装体中, LVFX 上的 $1\,709.4\text{ cm}^{-1}$ 代表的羰基峰, $1\,306.1$ 和 $1\,055.2\text{ cm}^{-1}$ 代表的 C—O—C 基峰, $1\,530.5$ 和 $1\,622\text{ cm}^{-1}$ 代表的苯环杂环峰, 均没有在组装体上表现出来, 表明这些峰被包裹在 MCM-41 孔道里面, 并非附在其表面。部分峰(如 Si—OH 红移为 $\Delta\delta=20\text{ nm}$)有较大红移, 表明 LVFX 和 MCM-41 上的基团有相互作用, 这是分子间的范德华力, 主要是氢键。有较小位移($<10\text{ cm}^{-1}$)的基团位移主要是受介孔微环境和介孔内表面基团的空间位阻的影响形成的[11]。

Table 2 Main peaks of FTIR spectrum of LVFX/MCM-41, MCM-41 and LVFX

LVFX/MCM-41 / cm^{-1}	MCM-41 / cm^{-1}	LVFX / cm^{-1}	红移 $\Delta\delta$ / cm^{-1}
3 438.6	3 454.0	3 442.6	15, 4
2 931.3		2 925.0, 2 855	6
1 472.5		1 478.2	6
1 384.7		1 361.8	23
1 636.8	1 636.5	1 709.4(羰基)	0
1 559.8	1 563.6	1 530.5, 1 622 (苯环杂环峰)	3
1 412.9	1 459.8	1 306.1, 1 055.2 (C—O—C)被包裹	47
1 062.8	1 089.3		26
787.3	803.3		16
464.1	465.6		1(Si—O—Si)
949.1	969.5	1 168.7~980 (苯环的氟振动)	20(Si—OH)
		1 259.0(C—N)	
689.6	669.2		20(Si—C)

2.1.3 热重分析

由图 2 可知, MCM-41 只在小于 100 °C 有 16.681% 的质量损失, 由分子筛表面吸收的微量水导致^[12], 100~800 °C 无明显的质量损失, 表明 MCM-41 在 800 °C 以下具有很好的热稳定性。LVFX/MCM-41 在 68.51 °C 有 19.866% 的质量损失, 是组装体的水分带来的; 在 600~800 °C 有 13.674% 的质量损失, 由 LVFX 分解所致。实验测得 LVFX 分子小于在 250~400 °C 时质量损失为 12.960%, 对比组装体在 600~800 °C 有 13.674% 的质量损失, 可以推断药物分子分解所需要的温度明显由较低温(250~400 °C)度移向高温区(600~800 °C), 这是因为药物分子和分子筛内表面基团产生了相互作用, 可能形成了氢键, 除了要克服纯粹的分子间力外, 还必须提供额外的能量来破坏分子间的氢键, 导致分解时需要能量升高。由图 2 计算得 $m_{LVFX}/m_{LVFX/MCM-41}$ 为 17.06%。

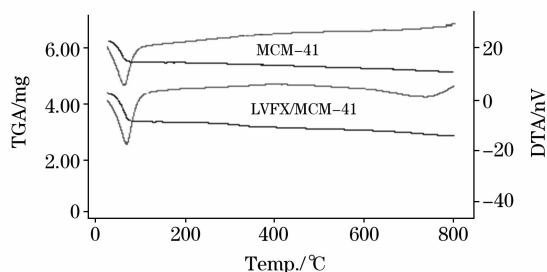


Fig. 2 TGA and DTA profiles of LVFX/MCM-41 and MCM-41

2.2 荧光光谱分析

Shen^[13] 在 477 nm (2.5 V) 测得了 MCM-41 强的光致发光峰, 认为其发光性和样品表面的硅羟基有关, 即 NBOHC (没有成键的氧中心 $\equiv \text{Si}-\text{O}^*$) 导致的。Li^[14] 通过线性拟合得到在 470 nm (约 2.65 eV) 测得光致发光峰, 本实验测其荧光峰为 468 nm (如图 3 所示), 与文献接近。组装体 LVFX/MCM-41 相对于 MCM-41 有 17 nm 的红移, 其原因是 MCM-41 内表面的 Si-OH 和药物分子组装后, 与药物分子中的 F 和 OH、羧基形成了氢键, n 电子云从 Si-OH 转向 LVFX 分

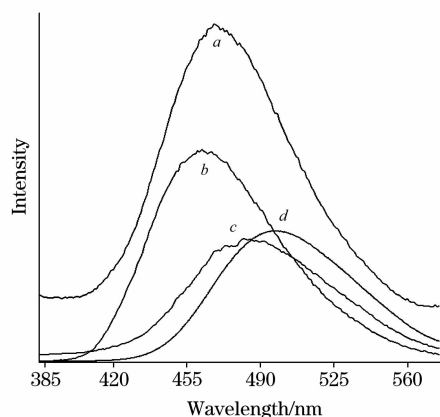


Fig. 3 Fluorescence spectra of MCM-41 (a) and LVFX (b), LVFX/MCM-41 (c) and liquid LVFX (d), $\lambda_{em} = 468, 458, 485$ and 496 nm, respectively

子中的吸电子基团转移, 导致了组装后 Si-OH 能量的转移, 同时由于药物的封装, 使孔道中没有和 LVFX 结合的 OH 空间位阻变大^[9], 增强了基团间电子云的相互作用, 因此组装后出现光谱红移。

LVFX 具有相当强的荧光, 这是因为在 LVFX 分子里有苯环、杂环以及大量的共轭双键, 构成了强共轭体系, 很容易激发并发射强的荧光。当药物分子载入介孔后, 药物分子的 F 和 OH、羧基和分子筛内表面的硅羟基相互作用, 形成了氢键, 使分子筛内孔壁的硅氧链与药物分子的苯环、杂环相连的 F 和 OH 形成更多的大环, 如图 4 所示。而供电基团—SiOH 上 n 电子云向 F、羧基以及羧基相连的环上转移, 由于它们的 n 电子云几乎与环上的 π 电子轨道平行, 实际上 Si-OH 共享了环上共轭 π 电子, 同时扩大了共轭双键体系, 使得组装于 MCM-41 孔道中的 LVFX 相对于未组的发生很大的红移。Zhang^[15] 等将 HA 组装在 MCM-41 孔道中, 研究认为 HA 封装后, MCM-41 中的特殊振动使 HA 中的羰基电子云密度增高, 另外 MCM-41 孔中 HA 的 $1 \rightarrow a\pi$ 跃迁可能受到增强 $p\pi$ 共轭的阻挠。可以看出组装后的客体分子的共轭体系得到加强和扩大, 和本文研究的结果一致。LVFX 在酸性环境下由于 H^+ 离解作用和羧基、羰基质子化作用, 使分子的基态与激发态之间的能量间隔发生变化, 从而导致发光光谱向长波移动。

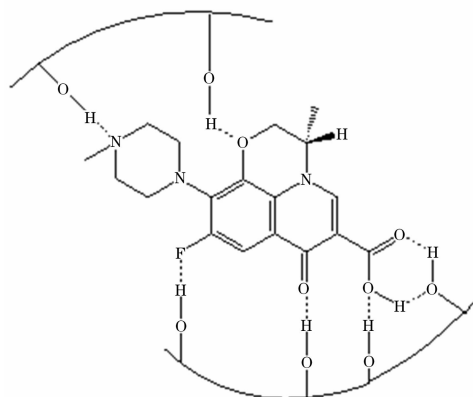


Fig. 4 Combination of LVFX and the hydroxy group on the internal surface of MCM-41 (the dash lines represent the hydrogen bond)

而固态 LVFX 与 LVFX 溶液之间有 38 nm 的红移, 主要是固态 LVFX 聚集状态是大量的药物分子的堆积, 没有受到周围环境的影响。溶液 LVFX 和 LVFX/MCM-41 的荧光发射峰位置相接近 ($\Delta\lambda_{em} = 11$ nm), 可推测 LVFX/MCM-41 中受到环境的作用和 LVFX 溶液受到周围环境的相类似。把 LVFX 看成溶质, 把 LVFX 溶液周围酸性环境和 MCM-41 的介孔酸性环境^[16] 看成是溶剂笼^[15], 则受到环境强烈的作用, 因此固态 LVFX 相比 LVFX 溶液和 LVFX/MCM-41 都有能量的转移。在液体中, LVFX 分子单独存在, 可以推测在 MCM-41 孔道中, LVFX 分子和内表面的硅羟基相接触, 使得 LVFX 分子各自单独存在。

3 结束语

本文用微波辅助法合成了 MCM-41 介孔分子筛材料, 并对其结构进行表征。通过固态 MCM-41, LVFX 以及溶液 LVFX 与组装体 LVFX/MCM-41 之间荧光发射光谱峰红移的研究, 推测出 LVFX 分子上的极性基团和 MCM-41 表面

的羟基形成了氢键; 另一方面, 氢键的形成扩大 LVFX 的环状结构, LVFX 的共轭体系被扩大。同时 MCM-41 的介孔的酸性环境起到溶剂笼作用, 药物分子能和 MCM-41 上的内表面羟基发生类似质子化强烈的作用, 正是由于以上作用的存在, 使药物分子能和分子筛牢固的结合, 大大降低了药物分子从分子筛中溶出的速率, 这为设计并开发新的左氧氟沙星缓释制剂提供依据。

参 考 文 献

- [1] Beck J S, Vartuali J C, Roth W J, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114: 10834.
- [2] Kresge C T, Leonowica M E, Roth W J, et al. *Nature*, 1992, 359: 710.
- [3] Clara Y, Maria M, Valeria G, et al. *Chem. Eng. J.*, 2008, 137: 45.
- [4] YANG P P, QUAN Z W, LU L L, et al. *Biomaterials*, 2008, 29: 692.
- [5] Wei Zeng, Qian Xuefeng Yin Jie, et al. *Materials Chemistry and Physics*, 2006, 97: 437.
- [6] Patricia Horcajada, Ainhoa Rámila, Gérard Férey, et al. *Solid State Sciences*, 2006, 8: 1243.
- [7] Sousa A, Souza K C, Sousa E M B. *Acta Biomaterialia*, 2008, 4: 671.
- [8] Brian G T, Jennifer A N, ZHAN Yannan, et al. *Chem. Eng. J.*, 2008, 137: 23.
- [9] ZHAO X S, Audsley F, Lu G Q. *Phys. Chem. B*, 1998, 102: 4143.
- [10] JIANG Tingshun, TANG Yajing, ZHAO Qian, et al. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2008, 315: 299.
- [11] Zhao Wenjuan, LI Dongmei, HE Bin, et al. *Dyes and Pigments*, 2005, 64: 265.
- [12] Francisco L D C, Jean G S, Glauber J T F, et al. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2007, 102: 258.
- [13] Shen J L, Cheng C F. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci*, 2003, 7: 427.
- [14] Li X X, Tang Y H, Lin L W, et al. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2008, 111: 591.
- [15] Zhang L Z, Tang Guoqing, Gao Bowen, et al. *Chem. Phys. Lett.*, 2004, 396: 102.
- [16] Ali A E R, Uwe K A K. *Chem. Phys. Lett.*, 2004, 397: 484.

Study on the Interaction of Levofloxacin and MCM-41 by Fluorescence Spectrum

CAO Yuan^{1, 2}, YUAN Qing-hua¹, XIA Zhi-ning^{1, 2*}, XU Yan-qin¹, BAI Ying-hao¹

1. Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China

2. Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400030, China

Abstract The mesoporous molecular sieve MCM-41 was synthesized by hydrothermal method under microwave irradiation and the levofloxacin was encapsulated in the hexagonal ordered channels of MCM-41 using pickling process. The structure and property of MCM-41 and LVFX/MCM-41 were characterized by means of small-angle X-ray diffraction(XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), N₂ physical adsorption, and thermogravimetric analysis-differential thermal analysis (TGA-DTA). The pore diameter and the specific surface area of the mesoporous molecular sieve MCM-41 synthesized under microwave irradiation were 2.382 nm and 1 015 m² · g⁻¹ respectively. The fluorescence spectra of MCM-41, LVFX/MCM-41, LVFX (solid) and LVFX (solution) were investigated. The results indicated that there were some visible red shifts in the fluorescence spectrum of the composite of LVFX/MCM-41 as compared with the samples before being encapsulated. It was inferred from the results that hydrogen bonds were formed between levofloxacin and the hydroxy group in the inner pores, and the electron cloud could transfer from the hydroxy group to electro-attracting group. At the same time, the electron cloud could transfer in much larger annulations, and the conjugated system of LVFX was extended because of the new annulations formed, which contributed to the red shifts of the fluorescence spectra. The strong interactions between the LVFX and MCM-41 provided the theory for developing a novel delayed release drug using MCM-41 as the carriers.

Keywords MCM-41; Composite; Fluorescence spectrum; Red shifts; Interaction

* Corresponding author

(Received Mar. 28, 2008; accepted Jun. 29, 2008)