

文章编号:1674-2869(2009)01-0005-05

# 含铋复合材料对幽门螺杆菌的多联治疗的研究

陈嵘<sup>1</sup>,程刚<sup>1</sup>,吴际良<sup>1</sup>,肖烽<sup>1</sup>,谢尧平<sup>1</sup>,孙红哲<sup>2</sup>

(1. 武汉工程大学化工与制药学院,绿色化工过程省部共建教育部重点实验室,湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室,湖北武汉430074;2. 香港大学化学系,香港)

**摘要:**将以具有链状高分子结构的柠檬酸铋为模板和前体合成出本身具有抑菌活性的含铋纳米材料,并以此为载体,通过吸附、填充、化学结合等方法与药物小分子或抗生素形成复合材料. 研究含铋纳米材料和小分子复合过程的相互作用. 评价含铋纳米材料在复合前后对幽门螺杆菌生长的抑制活性的变化. 初步研究在模拟生理条件下,纳米材料分解和释放药物的过程,为研究开发新的治疗消化性溃疡疾病的药物提供新的思路.

**关键词:**铋;无机复合材料;幽门螺杆菌;多联治疗

中图分类号:TQ 050.4<sup>1</sup> 21 文献标识码:A

## 0 引言

慢性胃炎、胃溃疡和十二指肠溃疡等消化性溃疡一直是困扰人类的常见疾病,发病率很高,但过去对其病因却一直不清楚. 自从1983年澳大利亚两位科学家 Marshall 和 Warren 发现了幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)<sup>[1]</sup>与慢性胃炎和消化性溃疡的直接关系以来,对幽门螺杆菌的研究也成为全世界医学研究的热点. 研究发现,这类细菌存在于胃黏膜,是导致慢性胃炎的主要病原体,它也与胃萎缩、胃溃疡、甚至胃癌有关<sup>[2-4]</sup>. 由于幽门螺杆菌与消化性疾病发病有着密切的关系,因而根治幽门螺杆菌具有重要意义.

铋是元素周期表中最重要、最稳定的金属元素,位于金属和非金属交界处,具有特殊的理化性质,无毒且具有不致癌特性,被称为绿色金属<sup>[5-7]</sup>. 在自然界中以氧化物、碳酸盐及硫化物的形式存在. 其配合物的用途非常广泛,在医学上是抑制幽门螺杆菌治疗胃溃疡和胃肠道紊乱的有效成分<sup>[8-13]</sup>. 目前常用的能抑制幽门螺杆菌的含铋化合物的药物有胶体次枸橼酸铋(Colloidal Bismuth Subcitrate, CBS, De-Nol, 商品名为丽珠得乐),雷尼替丁枸橼酸铋(Ranitidine Bismuth Citrate, RBC, Pylorid)以及胶体果胶铋等<sup>[9]</sup>. 此外抗生素和质子泵抑制剂等都能对幽门螺杆菌产生不同程度的抑制作用,并可保护胃黏膜. 又由于幽门螺杆菌在体内对多种抗菌药非常敏感,因此使用组成

单一的药物几乎无效,很难清除幽门螺杆菌. 现阶段清除幽门螺杆菌常用的治疗方案有铋剂加二联抗生素或质子泵抑制剂等强抑菌剂加二联抗生素治疗. 研究表明,三联或多联用药常可达到清除幽门螺杆菌彻底、疗程短和副作用少的效果<sup>[14]</sup>. 法国药物管理局更是重点推荐了治疗幽门螺杆菌感染的三重疗法. 加拿大科学家提出的采用单个胶囊包含多联用药来抑制幽门螺杆菌的研究思路引起广泛关注,但这并非简单将多种成分混和,而是在大的胶囊(铋剂)中包含小的胶囊(抗生素)以防止药物之间可能产生反应,但此项研究并未取得实质性的进展. 如何寻找合适的载体同时承载不同药物分子也正是困惑研究人员的一个大问题.

近年来,新材料的发展日新月异,复合材料更是由于其优良的综合性能和性能的可设计性广泛应用于各个领域. 与此同时,纳米技术向生物领域的渗透形成了纳米生物技术,而纳米药物载体的研究是纳米生物技术的重点和热点. 目前,国际上纳米生物技术在医药领域的研究已取得一定的进展<sup>[15-18]</sup>. 日本科学技术振兴机构村上达也博士和饭岛澄男研究小组负责人,最近成功完成了利用碳纳米管(CNH)作为药物传送系统运载载体的基础实验. 利用这一药物传送系统,科学家成功地使抗炎药物地塞米松吸附在碳纳米管内,从而确认了碳纳米管具有缓慢释放药物成分和缓释后保持药效的特性,此项研究成果可大大加速碳纳米管的药物运载研究与开发<sup>[19]</sup>. 同时对生物纳米材

收稿日期:2008-09-23

基金项目:国家自然科学基金项目(20801043),武汉市科技局青年科技晨光计划(200850731376)

作者简介:陈嵘(1973-),男,湖南长沙人,教授,博士,硕士生导师,研究方向:生物无机化学,纳米材料化学.

料用于医药的临床应用提供很好的借鉴作用。

本研究从多联用药抑制幽门螺杆菌的思想出发,提出以含铋纳米材料(含铋纳米管或纳米颗粒)为载体,系统研究其在吸附或填充药物小分子或其他抗生素形成复合材料后对幽门螺杆菌的抑制活性以及含铋纳米材料与其他药物复合过程中的相互作用。笔者寻求作为载体本身的纳米材料就是具有抑制幽门螺杆菌活性的,可取代铋剂作为多联用药的成分之一,用具有抑菌活性的含铋纳米材料取代传统的铋剂并作为承载抗生素的载体而实现“单胶囊”的多联用药。目前,国内对于含铋纳米材料的研究,多集中在材料的合成上,例如在各种条件下合成不同形貌大小的纳米硫化铋( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ )的报道层出不穷<sup>[20-23]</sup>。但研究者在重视铋剂对胃病以及消化道疾病的作用的同时,却忽视了铋化合物在纳米级状态下的抑制幽门螺杆菌的活性可能有所提高,并同时能作为潜在的治疗幽门螺杆菌感染的药物载体或“药物胶囊”。国内外尚未发现利用含铋纳米材料负载药物分子或抗生素来抑制幽门螺杆菌的报道。这一研究势必会对开发新的治疗消化性溃疡疾病的药物提供一条全新的思路。

## 1 实验方案

### 1.1 含铋纳米材料的合成与表征

采取传统的纳米材料合成方法,以具有线性高分子结构的柠檬酸铋或其它铋盐为前体,通过物理(如紫外线照射)和化学(如高温回流、水热合成等)的方法合成各类不同形貌和大小含铋的纳米材料<sup>[24-28]</sup>。

前期的实验发现,柠檬酸铋在不同的 pH 值下始终保持链状高分子结构,但存在着一定的差别,且在不同 pH 值下溶解度不同<sup>[29-31]</sup>。在特定条件下还可以形成多孔通道,利用这一特性,可通过控制作为前体和模板的柠檬酸铋的 pH 值,来达到调控生成的纳米材料的形貌,并通过透射电镜(TEM)和扫描电镜(SEM)对合成的纳米材料的形貌进行表征,通过 X-射线粉末衍射(XRD)和 X-射线能量衍射(EDX)等对样品的成分、物相等进行确认和分析。综合前期实验结果,筛选出形貌、大小合适且活性好的纳米材料进行下一步研究。在前期的工作中,笔者选用柠檬酸铋与硫脲反应制得了高纯度硫化铋纳米棒<sup>[32]</sup>,其扫描电镜图(SEM)如图 1 所示。并以柠檬酸铋为前体,在 CTAB 存在的条件下首次合成了碳酸氧铋纳米管<sup>[33]</sup>,其透射电镜图(TEM)如图 2 所示。



图 1 硫化铋纳米棒的扫描电镜图

Fig. 1 Scanning electron microscopy image of  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanorods

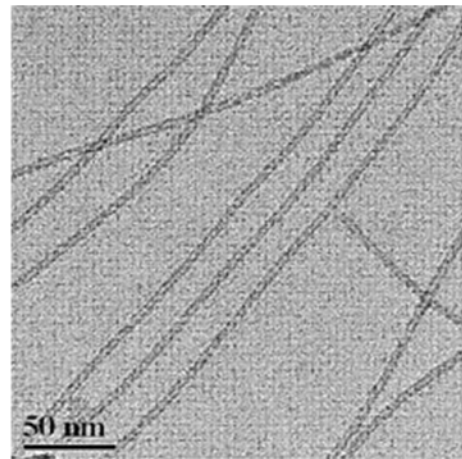


图 2 碳酸氧铋纳米管的透射电镜图

Fig. 2 Transmission electron microscopy image of  $(\text{BiO})_2\text{CO}_3$  nanotubes

### 1.2 含铋纳米材料的修饰以及含铋复合材料的合成

通过对筛选出的含铋纳米材料(以纳米管为主)的修饰,在材料表面或内部负载同样对幽门螺杆菌有抑制作用的药物小分子(如雷尼替丁、胶体次枸橼酸铋等)或抗生素(如甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素等),从而形成复合材料<sup>[34-41]</sup>。在形成复合材料的过程中,主要将采用以下几种方法:

①物理吸附法:利用毛细管作用力使液态的物质进入纳米管;

②气相填充法:在真空条件下加热容器使被填充物升华或气化,让气态分子扩散进入另一容器的纳米管内部;

③利用铋离子对其它分子修饰以后存在的—OH、—SH、—NH<sub>2</sub>等基团中硫、氧、氮的强的结合能力来实现铋纳米材料(包括纳米管以及纳米颗粒)与其他分子的结合;

④复合材料原位生成法:含铋纳米材料不是

预先合成出来,而是在药物小分子或抗生素存在的条件下,在反应中直接生成复合材料.该方法要求合成过程中溶剂是对生物友好的、无毒害作用的介质,或者生成复合材料后易于提纯和分离.

在形成含铋复合材料后,我们将利用各种物理手段如 X-射线粉末衍射(XRD)、扫描电镜(SEM)、透射电镜(TEM)、X-射线能量衍射(EDX)和 X 射线光电子能谱(XPS)等对其形貌、性质等进行表征.

### 1.3 含铋纳米材料以及复合材料的抑菌活性测试

在微氧条件下,培养分离幽门螺杆菌,并在相同条件下对不同的含铋纳米材料以及负载药物小分子或抗生素后的复合材料的抑制幽门螺杆菌的活性进行测试,其中碳酸氧铋纳米管是笔者近年研究得到的一种具有很好活性的纳米管<sup>[33]</sup>,如图3所示.在测定其对幽门螺杆菌的活性中,主要通过紫外光谱测定 600 nm 下细菌的光密度(OD值)来检测不同时间细菌的存活数目.比较含铋纳米材料复合前后抑菌活性的变化.并对复合材料形成之后在模拟生理条件下药物小分子或抗生素的释放机理做初步研究.

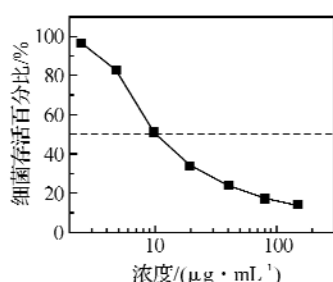


图3 碳酸氧铋纳米管的抑菌活性

Fig. 3 Anti-*H. pylori* property of  $(\text{BiO})_2\text{CO}_3$  nanotubes

## 2 研究展望

预计通过溶剂热合成法和微波辐射反应法以及其他新的方法合成出多种不同形貌大小的含铋纳米材料(含铋纳米管和纳米颗粒),全面评估其对幽门螺杆菌的抑制活性后,从中我们可以筛选出抑菌活性好的含铋纳米材料,并以此为载体,通过吸附、填充、化学结合等方法将药物小分子(如雷尼替丁、胶体次枸橼酸铋等)或抗生素(如甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素等)有效负载而得到含铋的复合纳米材料.期望含铋纳米材料在形成复合材料后对幽门螺杆菌生长的抑制活性有较为明显的变化,从而得到抑菌性能更好的含铋复合纳米材料.在复合过程中得出含铋纳米材料与药物小分子或抗生素形成复合材料的规律;并在模拟生理条件下探索复合纳米材料的分解和药物释放的

过程.为开发含铋“纳米药物”提供有力的数据和新的思路.

## 3 结 语

本研究希望合成出多种具有抑制幽门螺杆菌活性的铋类纳米材料,并能将小分子或抗生素有效负载而形成复合材料,提高纳米材料的抑菌活性,从而做到铋剂和抗生素的有效结合.用具有抑菌活性的含铋纳米材料取代传统的铋剂并作为承载抗生素的载体而实现“单胶囊”的多联用药也是本研究最为显著的特点.针对目前治疗胃炎和消化系统溃疡的三联或多联治疗方法,这一研究必为开发新的治疗消化性疾病的药物提供新的思路和借鉴,对困扰人类的胃炎和消化性溃疡的治疗起到积极的作用.

致谢:感谢国家自然科学基金(项目编号:20801043)和武汉市科技局青年科技晨光计划(项目编号:200850731376)的资助,感谢武汉工程大学的支持.

### 参考文献:

- [1] Warren J R, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis[J]. Lancet, 1983, 1: 1273-1275.
- [2] Mobley H L, Island M D, Hausinger R P. Molecular biology of microbial urease[J]. Microbiol Rev, 1995, 59: 451-480.
- [3] 孙红哲, 张丽, 司徒嘉怡. 含铋类药物的生物化学和药物化学研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 18: 297-301.
- [4] 蒋琪英, 沈娟, 钟国清. 含铋(III)配合物的合成及其铋的配位性质[J]. 化学进展, 2006, 18(12): 1634-1645.
- [5] 贾如宝. 绿色金属 铋(Bi) [J]. 金属世界, 1993, 5: 22-25.
- [6] Lambert J R, Midolo P. The actions of bismuth in the treatment of *Helicobacter pylori* infection [J]. Aliment Pharmacol Ther, 1997, 11(Suppl. 1): 27-33.
- [7] Guo Z J, Sadler P J. Metals in Medicine[J]. Angew Chem Int Ed, 1999, 38: 1512-1531.
- [8] Blaser M J. Hypotheses on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation [J]. Gastroenterology, 1992, 102: 720-727.
- [9] Sun H, Szeto K Y. Binding of bismuth to serum proteins: implication for targets of Bi(III) in blood plasma [J]. J Inorg Biochem, 2003, 94: 114-120.
- [10] Briand G G, Burford N. Bismuth Compounds and

- Preparations with Biological or Medicinal Relevance [J]. *Chem Rev*, 1999, 99: 2601-2657.
- [11] Sun H, Li H, Mason A B, et al. N-lobe versus C-lobe complexation of bismuth by human transferrin [J]. *Biochem J*, 1999, 337: 105-111.
- [12] Sadler P J, Li H, Sun H. Unexpectedly Strong Binding of a Large Metal Ion ( $\text{Bi}^{3+}$ ) to Human Serum Transferrin [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271: 9483-9489.
- [13] Zhang L, Szeto K Y, Wong W B, et al. Interactions of Bismuth with Human Lactoferrin and Recognition of the  $\text{Bi}^{\text{III}}$ -Lactoferrin Complex by Intestinal Cells [J]. *Biochemistry*, 2001, 41: 13281-13287.
- [14] 符舜. 三联疗法治疗 Hp 阳性溃疡疗效分析[J]. *中国热带医学*, 2008, 8 (1): 61-62.
- [15] Kim I S, Lee S K, Park Y M, et al. Physicochemical characterization of poly(L-lactic acid) and poly(D, L-lactide-co-glycolide) nanoparticles with polyethylenimine as gene delivery carrier [J]. *Int J Pharm*, 2005, 298 (1): 255-262.
- [16] Pathak P, Meziari M J, Desai T, et al. Nanosizing drug particles in supercritical fluid processing [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126 (35): 10842-10843.
- [17] Grenha A, Seijo B, Remunan-Lopez C. Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2005, 25 (4-5): 427-437.
- [18] Date A A, Patravale V B. Current strategies for engineering drug nanoparticles [J]. *Curr Opin Colloid Interface Sci*, 2004, 9(3-4): 222-235.
- [19] Ajima K, Yudasaka M, Murakami T, et al. Carbon Nanohorns as Anticancer Drug Carriers [J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2005, 2(6): 475-480.
- [20] Shao M W, Zhang W, Wu Z C, et al. A template-free route to  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nano-ribbons [J]. *Journal of Crystal Growth*, 2004, 265: 318-321.
- [21] Lu Q Y, Gao F, Komarneni S. Biomolecule-Assisted Synthesis of Highly Ordered Snowflake-like Structures of Bismuth Sulfide Nanorods [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, (126): 54-55.
- [22] Yang X H, Wang X, Zhang Z D. Facile solvothermal synthesis of single-crystalline  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanorods on a large scale [J]. *Materials Chemistry and Physics*, 2006, 95: 95154-157.
- [23] Koh Y W, Lai C S, Du A Y, et al. Growth of Bismuth Sulfide Nanowire Using Bismuth [J]. *Chem Mater*, 2003, 15: 4544-4554.
- [24] Wu S H, Chen D H. Synthesis of high-concentration Cu nanoparticles in aqueous CTAB solutions [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2004, 273: 165-169.
- [25] Wang Y, Yang H. Synthesis of CoPt Nanorods in Ionic Liquids [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 5316-5317.
- [26] Wang L, Chen X, Zhan J, et al. Synthesis of Gold Nano- and Microplates in Hexagonal Liquid Crystals [J]. *J Phys Chem B*, 2005, 109: 3189-3194.
- [27] Nikoobakht B, El-Sayed M A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method [J]. *Chem Mater*, 2003, 15: 1957-1962.
- [28] Wang L, Wei G, Qi B, et al. Electrostatic assembly of  $\text{Cu}_2\text{O}$  nanoparticles on DNA templates [J]. *Appl Surf Sci*, 2006, 252: 2711-2716.
- [29] Li W, Jin L, Zhu N Y, et al. Structure of Colloidal Bismuth Subcitrate (CBS) in Dilute HCl: Unique Assembly of Bismuth Citrate Dinuclear Units ( $[\text{Bi}(\text{cit})_2\text{Bi}]^{2-}$ ) [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 12408-12409.
- [30] Asato E, Katsura K, Mikuriya M, et al. Synthesis, Structure and Spectroscopic Characterization of Bismuth Citrate Compounds and Bismuth-Containing Ulcer Healing Agent Colloidal Bismuth Subcitrate (CBS) 3.  $^1$  Crystal and Solution Structures of  $\text{K}(\text{NH}_4)[\text{Bi}_2(\text{cit})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{H}_2\text{O})_x$  ( $x=2,4$ ) [J]. *Inorg Chem*, 1993, 32: 5322-5329.
- [31] Asato E, Katsura K, Mikuriya M, et al. Synthesis, Structure and Spectroscopic Properties of Bismuth Citrate Compounds and the Bismuth-Containing Ulcer-Healing Agent Colloidal Bismuth Subcitrate (CBS) 4.  $^1$  Crystal Structure and Solution Behavior of a Unique Dodecanuclear Cluster  $(\text{NH}_4)_{12}[\text{Bi}_2\text{O}_3(\text{cit})_8](\text{H}_2\text{O})_{10}$  [J]. *Inorg Chem* 1995, 34: 2447-2454.
- [32] Chen R, So M H, Che C M, et al. Controlled synthesis of high crystalline bismuth sulfide nanorods; using bismuth citrate as a precursor [J]. *J Mater Chem*, 2005, 15: 4540-4545.
- [33] Chen R, So M H, Yang J, et al. Fabrication of bismuth subcarbonate nanotube arrays from bismuth citrate [J]. *Chem Comm*, 2006, 21: 2265-2267.
- [34] 谭凤娉, 范晓彬, 张国亮, 等. 碳纳米管的填充 [J]. *化学通报*, 2006, 69: w098.
- [35] Becker M L, Fagan J A, Gallant N D, et al. Length-Dependent Uptake of DNA-Wrapped Single-Walled Carbon Nanotubes [J]. *Adv Mater*, 2007, 19: 939-945.
- [36] Yanagi K, Miyata Y, Kataura H. Highly Stabilized  $\beta$ -Carotene in Carbon Nanotubes [J]. *Adv Mater*,

- 2006,18:437-441.
- [37] Okada T, Kancko T, Hatakeyama R, et al. Electrically triggered insertion of single-stranded DNA into single-walled carbon nanotubes[J]. Chem Phys Lett,2006,417:288-292.
- [38] Govindaraj A, Satishkumar B C, Nath M, et al. Metal Nanowires and Intercalated Metal Layers in Single-Walled Carbon Nanotube Bundles[J]. Chem Mater,2000,12(1): 202-205.
- [39] Kiang C H, Choi J S, Tran T T, et al. Molecular Nanowires of 1 nm Diameter from Capillary Filling of Single-Walled Carbon Nanotubes [J]. J Phys Chem B,1999,103(35):7449-7451.
- [40] Kim B M, Qian S, Bau H H. Filling Carbon Nanotubes with Particles [J]. Nano Lett, 2005, 5 (5):873-878.
- [41] Korneva G, Ye H H, Gogotsi Y, et al. Carbon Nanotubes Loaded with Magnetic Particles [J]. Nano Lett,2005,5(5):879-884.

## Research on the application of inorganic bismuth nanocomposites in multiple-inhibition against *H. pylori*

CHEN Rong<sup>1</sup>, CHENG Gang<sup>1</sup>, WU Ji-liang<sup>1</sup>, XIAO Feng<sup>1</sup>, XIE Yao-ping<sup>1</sup>, SUN Hong-zhe<sup>2</sup>

(1. School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology; Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Hubei Key Lab of Novel Reactor and Green Chemical Technology, Wuhan 430074, China; 2. Department of Chemistry, the University of Hong Kong, Pokfulam, Hong Kong)

**Abstract:** Different bismuth nanomaterials will be synthesized and characterized using bismuth citrate as a template and bismuth precursor, which has linear polymeric structure. Based on this, nanocomposite materials with antibiotics or small molecules will be designed through adsorption, filling and chemical bonding. The interactions between bismuth nanomaterials and small molecules will be discussed. The inhibitory activities against *H. pylori* of bismuth nanomaterials and nanocomposites will be evaluated. Also we will focus on the primary studies on the process of the decomposition of nanocomposites and drug release under a simulated physiological conditions. It can provide a new idea for the research and development of new drugs in the treatment of peptic ulcer disease.

**Key words:** bismuth; inorganic nanocomposites; *H. pylori*; mutiple-treatment

本文编辑:张 瑞



### 更 正

本刊第 30 卷 2008 年第 4 期第 8 页《1-萘酚的  $\beta$ -取代金属卟啉的合成及其抗菌活性》一文中,由于排版失误,合成反应式中产物

