



离子液体氢键及生物医药应用

董坤, 张锁江*

中国科学院过程工程研究所, 北京 100190

*通讯作者, E-mail: sjzhang@ipe.ac.cn

收稿日期: 2021-05-12; 接受日期: 2021-06-29; 网络版发表日期: 2021-10-09

国家自然科学基金重大项目(编号: 21890762)和国家自然科学基金面上项目(编号: 21878296)资助

摘要 离子液体在生物医药领域展现了巨大的应用潜力, 同时这也是离子液体研究的前沿领域. 然而生物相容性机理和药物构效关系不清楚, 成为离子液体生物医药应用的瓶颈问题. 离子间特殊氢键作用, 提供了揭示其生物机理的分子基础. 本文通过3个典型应用实例, 即DNA稳定、抗肿瘤治疗和药物合成, 阐述了氢键在离子液体生物医药应用过程中起到的关键作用, 这些结论将为开拓新的离子液体生物医药应用提供科学依据.

关键词 离子液体, 氢键作用, DNA稳定, 抗肿瘤治疗, 离子液体药物

1 引言

离子液体(ionic liquids, ILs)由于具有许多优良的物理化学特性, 如低熔点、高热稳定性、极低的挥发性等^[1~3], 成为绿色化学的代名词. 其在烷基化^[4]、CO₂吸收转化^[4,5]、二维新材料^[6,7]、浆料电池^[8]、生物医药^[9,10]等重大应用中显示了巨大优势和潜力, 得到学术界、工业界以及世界各国政府的高度关注, 并将其列为优先战略发展方向^[2,11,12].

新冠病毒疫情的爆发和世界范围内的流行, 促使人们寻找更加有效的药物治疗方法. ILs作为新型的绿色溶剂再次引起人们的关注. 来自哈佛大学Mitrageoti实验室的研究人员研制出基于ILs的喷剂, 能够有效杀死新冠病毒, 这进一步说明ILs在生物医药领域有着潜在的应用. 早在2015年, Rogers等^[13]在Nature中提出了“具有生物活性离子液体药物(active pharmaceutical ingredients ionic liquid drugs, API-ILs)”的概念, 把具有生

物活性的API-ILs称为第三代ILs.

ILs作为药物候选者, 对许多疾病细胞有明显的抑制作用, 可以作为典型的抗癌药, 其对HeLa299、B16、SMMC-7721等肿瘤细胞的体外半最大效应浓度(EC₅₀)小于10 μg/mL. 同时, 其对治疗白血病也有很高活性, 细胞毒性相对较低, 而且ILs作为新一类液态活性药物组分, 在消除晶型转换、增加渗透性、溶解性等方面极大地克服了固体药的缺点, 显示了独特优势^[9,14].

尽管如此, ILs生物/药物相关研究刚刚起步, 尤其是生物相容性及作用机理并不完全清楚, 这成为ILs生物医药研究的瓶颈问题^[13,15]. 小分子药物的作用机理与本身结构密切相关. 例如, 液态的利多卡因(碱)和布洛芬(酸)之间有强氢键作用, 两种活性组分可以充分结合, 在穿过细胞膜时保持一致, 同时到达血液中. ILs完全由阴阳离子组成, 除静电外, 离子间存在特殊氢键^[16~19], 阳离子是氢的供体, 阴离子是受体. 而静电

引用格式: Dong K, Zhang S. Hydrogen-bond in ionic liquids and its application in biomedicine. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 1425–1434, doi: 10.1360/SSC-2021-0112

力会阻碍质子转移, 使得这种氢键更加稳定^[20]. 氢键导致阴阳离子一起运动, 对API-ILs的理化性质, 尤其是输运性质有重要的影响, 这也是理解ILs生物相容性和药物活性的分子基础. 为此, 我们将从以下方面展开讨论, 首先是ILs中氢键的定义和发展, 接下来从DNA稳定、抗肿瘤治疗及药物合成3方面对氢键起到的关键作用展开讨论, 最后给出结论.

2 ILs中特殊氢键的作用及发展

长期以来, 静电力一直被视为是氢键的本质特征. 带相反电荷的离子之间的氢键被认为是理所当然, 且广泛存在. 然而, 离子之间的氢键对溶液反应、大分子催化、生化水解和蛋白质的稳定性起着重要作用^[21]. 20世纪90年代末, 研究表明在晶体和生物体系中存在相反电荷的离子之间的氢键作用, 这个违反氢键经典概念的现象冲击了大量理论研究者对氢键的认知, 并促使大家发现除了静电力外, 氢键中还可能存在其他的成键因素. 这个“突兀”的现象也促使IUPAC在2011年修改了氢键的定义: 除静电吸引力外, 氢键的作用力中还存在由电荷转移产生的共价部分和色散部分. 2015年, 将这种离子间氢键定义为“Z键”作用^[20], 更加科学地描述了电荷氢键的特征, 明确了静电-氢键耦合氢键的结构特征、能量特征、光谱特征以及与普通氢键的区别.

由于局部吸引, 相同电荷离子之间也存在氢键, 把这种氢键作用称为抗静电氢键(anti-electrostatic hydrogen bonds, AEHB)^[22], 并将带相同电荷的离子之间的氢键归为新的一类氢键. 在ILs中, 阳离子-阳离子之间存在AEHB作用^[19]. 最近, 我们通过理论计算揭示阴离子-阴离子之间也有AEHB作用^[23]. 如果把这类特殊氢键归为带电离子之间的氢键作用, 而我们并没有限制异性电荷引起的吸引力还是同性电荷之间的排斥力, 也没有限制氢键供体-受体类型, 那么电荷离子之间的氢键范围会进一步扩充, 有四种类型作用: 阴-阳、阴-阴(卤素取代H原子, 卤键)^[24]、阳-阳以及阴-阴离子之间的氢键作用.

当API和ILs混合形成共结晶体, 即API-ILs时, 不同类型的相互作用也混合在一起, 可能要考虑2种或者3种氢键作用的混合^[25], 以至于完全离子化和中性分子之间有多种共结晶方式和结构. 例如, 在[Mor]-

[HMal]晶体中, 阳阴离子形成氢键的同时, 阳离子和阳离子平行堆积也形成氢键, 阴离子-阴离子C-H...O形成氢键, 导致离子有序、紧密排列. 这对于优化和提高APIs的有效性和药代动力学相当重要^[26]. 因此, 尽管没有考虑生物特征, 2013年美国食品药品监督管理局FDA将ILs氢键结晶作为IL药物的结构特征和普通的离子盐进行了区分, 说明氢键在ILs生物医药应用的重要意义.

3 ILs氢键在生物和医药中的作用机理和应用

3.1 氢键稳定DNA的作用机理

DNA是最重要的生物大分子, 承载着生命的遗传信息, 对于揭示生命的过程和疾病治疗尤为重要. 尽管DNA在水溶液中相对稳定, 但温度、pH值等外部因素稍有改变, 就会改变DNA的结构, 这对保存DNA样本十分不利. 许多ILs在稳定DNA表现出良好的效果, 如咪唑和胆碱型ILs. Wang等^[27]发现[Bmim][PF₆]可从水溶液中有效提取鲑鱼DNA, 其中[Bmim]⁺阳离子取代了磷酸盐基团中的Na⁺离子. 机理表明^[28,29], IL与DNA磷酸基团之间的静电和氢键作用以及IL与DNA主槽和小槽之间的疏水和极性作用是DNA大分子的脱水和高稳定性的原因. 分子动力学(MD)模拟和NMR结果显示, 胆碱ILs与B型DNA的A-T碱基对的小沟结合, 并通过氢键使其稳定^[30,31]. 在G-C碱基对的情况下, 胆碱与DNA单链中的鸟嘌呤进行特异性结合, 从而进一步通过碱基配对抑制双链体的形成. 最近Singh等^[32]给出了机理解释, 氢键在稳定DNA过程中的作用, 与疏水/极性作用方式不同, 更多涉及电子耦合而不是分子间的作用, 这不仅能和DNA主沟槽作用, 还能够和DNA小沟槽产生作用(如图1所示的1,1,3,3-tetramethylguanidine ([TMG]⁺)阳离子), 这大大加强了DNA稳定性的调控. 另外, DNA的变性主要发生在疏水阳离子组成的ILs中, 并且能够与核碱基环境建立分散相互作用. 此外, 与IL阳离子效果相比, IL阴离子对DNA相互作用影响更弱^[33].

3.2 氢键在抑制肿瘤生长中的作用

癌症对人类健康有重大影响, 从病理学角度需要创新治疗方法, 以减少传统疗法的副作用. 在新的抗肿瘤制剂方面, ILs展现了潜在价值. 凭借结构可调的

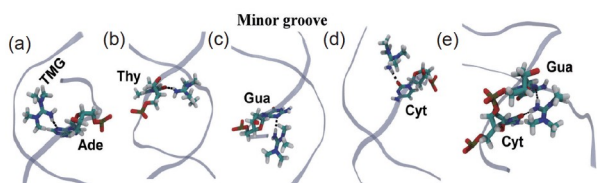


图 1 离子液体的[TMG]⁺阳离子和DNA小沟槽之间的氢键作用和稳定机理(虚线标注了存在氢键^[32]) (网络版彩图)

Figure 1 Hydrogen-bonds between the [TMG]⁺ cation and DNA that present in its minor groove (the dashed lines represent the hydrogen-bonds ^[32]) (color online).

优势, ILs可以设计为抗癌剂, 并能够调整其毒性, 同时定制治疗应用所需的物理化学和药理特性^[34]. Ali等^[35]通过微波辅助方法合成苯丙基ILs, 该ILs与DNA有良好的结合倾向. 所有ILs通过共价、氢键和静电结合与DNA相互交错结合, 并显示其对两个肺癌细胞系(A549和H-1229)的抗癌活性>50%且最大增殖抑制率达99.23%~99.69%.

含硫醇酶被认为是癌细胞增殖和保护的关键调节剂, 硝氧基(nitroxy, HNO)具有对含硫醇酶的抑制作用,

成为肿瘤治疗研究的热点. 而成败的关键是找到合适的HNO供体, 并释放HNO来对抗癌症. 最近, Lv等^[36]设计了氨基ILs以捕集空气中的NO, 形成IL-NONOates复合分子结构, 通过调节离子间的氢键能够实现持续释放HNO, 如图2所示.

CT-26和MCF-7细胞体外实验(*in vitro*)证实了其抗癌的有效性. 没有吸收NO前, IL没有表现出细胞毒性; 吸收NO后, 形成IL-NONOates一次或不同剂量癌细胞死亡情况(图3a). 病理研究表明, 经过IL-NONOate治疗的细胞反应氮组分(reactive nitrogen species, RNS, 这里主要是NO和HNO)含量明显升高, 而RNS的升高进一步导致肿瘤间谷胱甘肽(GHS)消耗, GHS含量降低(图3b), 说明HNO释放起到了抑制癌细胞生长的作用, 最终导致部分肿瘤细胞的死亡, 从整体上有效抑制肿瘤细胞的生长和繁殖. 体内实验发现, 每周三次皮下注射IL-NONOates的BALA/c小鼠体内(*in vivo*)的CT-26细胞在22天治疗后, 癌细胞的尺寸减少至80.0%和78.2%, 其中[APA]-NONOate表现出更好的效果, 癌细胞40.7%被抑制. 机理研究表明, 注射[Ch][APA]-NON-

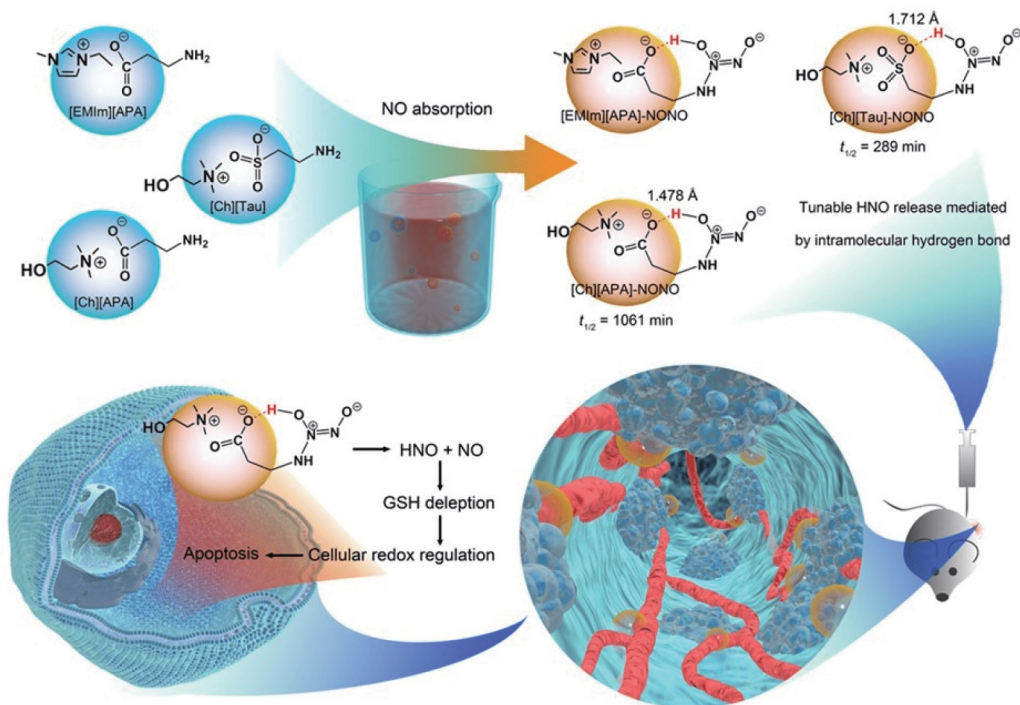


图 2 IL-NONOates氢键调节释放HNO抑制肿瘤细胞生长机理示意图^[36] (网络版彩图)

Figure 2 Schematic illustration of mechanisms for tunable release of HNO and tumor inhibition by IL-NONOates mediated by hydrogen-bonds ^[36] (color online).

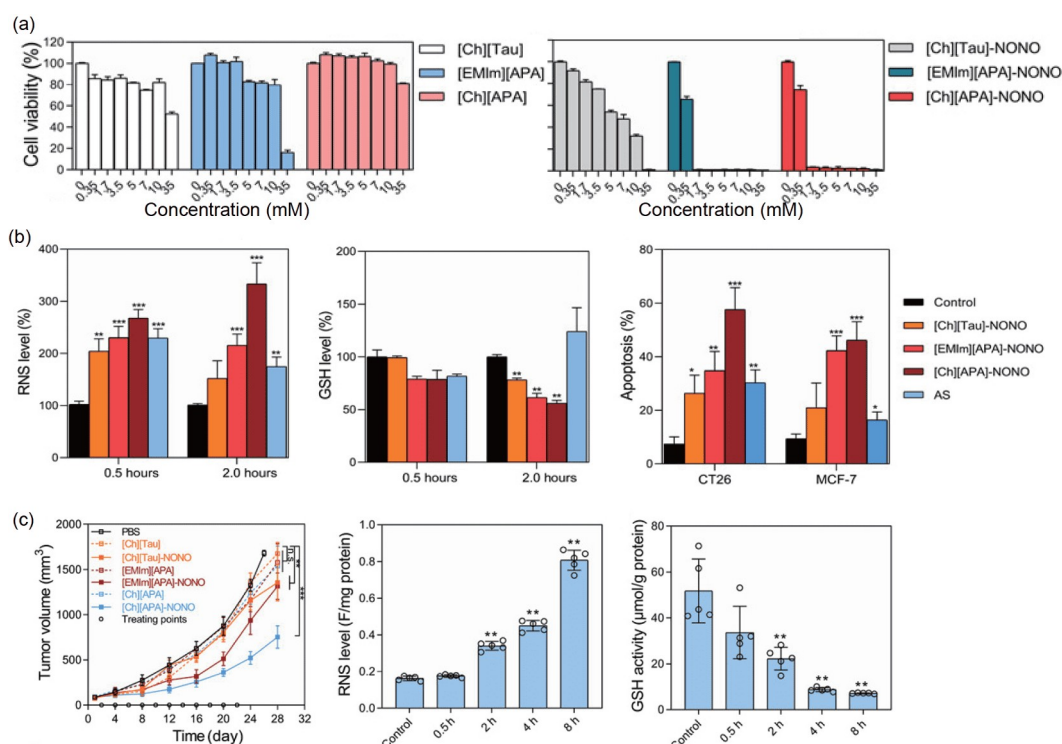


图3 体外(*in vitro*)和体内(*in vivo*) IL-NONOates释放HNO及抑制肿瘤细胞生长过程^[36]. (a) 24 h内CT-26细胞中ILs和形成IL-NONOates的浓度. (b) 经过1.0 mM IL-NONOates处理后, CT-26细胞内RNS和GSH含量及IL-NONOates治疗后细胞死亡情况. (c) 经过ILs和IL-NONOates治疗后, BALB/c小鼠体内肿瘤尺寸(mm³)及RNS/GSH含量变化情况(网络版彩图)

Figure 3 IL-NONOates impair the growth of tumor cells by releasing HNO *in vitro* and *in vivo* [36]. (a) *In vitro* concentration of ILs and the corresponding IL-NONOates in CT-26 cells was evaluated after 24 h of incubation. (b) Quantification of intracellular RNS and GSH levels after 1.0 mM IL-NONOates treatments in CT-26 cells at indicated times ($n=3$). (c) Tumor volume (in mm³) profile of treatment groups, and quantitative analysis of intra-tumoral RNS and GSH levels (color online).

Oate后, RNS的含量明显升高, 8 h后达到平常水平的 5.6 ± 1.4 倍, 而GHS显著降低, 甚至消失, 说明肿瘤内部IL-NONOate能够稳定提供RNS, 进一步抑制肿瘤间的氧化还原(redox)反应, 如图3c所示, 有效抑制肿瘤细胞生长.

3.3 氢键在ILs抗菌中的作用

与传统抗生素相比, ILs在分子量、玻璃化转化温度、水溶性等方面可以调节, 使得ILs成为非常有前途的抗菌新材料和试剂^[9]. 咪唑、吡啶、吡咯和氨基等ILs都显示了细菌和真菌有效抑制作用^[37,38]. 更重要的是, ILs的多样性特性, 结合其多功能的潜力, 可以提供了大量创新的抗菌策略, 提供了抗菌药物发现所需的化学多样性^[39]. Ganapathi等^[40]合成了8种硝基取代/未取代羰基双咪唑ILs, 结合不同阴离子对革兰氏阳性和革兰氏阴性病原菌进行了抗菌筛选, 结果表明, 同一种阴离子, 硝基取代的ILs具有明显的抗菌活性. 理论模

拟发现, 相对于没有硝基取代阳离子, 端位硝基基团能够和大肠杆菌蛋白氨基酸残基形成强氢键作用(氢键作用从9.91增加到23.63 kJ/mol), 比没有硝基取代的大, 如图4所示, 从而增强IL与目标蛋白质的结合能(结合能从73.58增加到92.33 kJ/mol), 达到更好的抗菌作用.

3.4 氢键在药物合成中的作用

3.4.1 氢键在ILs助剂合成药物中的作用

ILs具有低挥发性和毒性, 在药物合成工艺中可作为反应溶剂或助剂, 表现出比常规有机溶剂更好的效果^[41-43], 已经成功应用于多种药物前体及APIs的合成中. 在药物前体, 如内酰胺合成中, 一步反应, 产率>80%, 反应时间缩短到35 min以内^[44]. 在药物APIs的合成中, 如镇痛药普拉朵林(pravadoline), Seddon等^[45]利用[C₄mim][PF₆]作为溶剂, 反应过程不产生酸性废水, 与传统的二甲基亚砜相比, IL作为反应介质能够使反应的副产物大幅度减少, 而分离产率达90%以上.

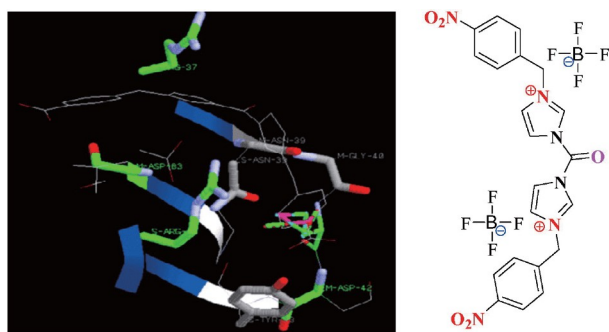


图 4 硝基取代羰基双咪唑IL阳离子与大肠杆菌蛋白氨基酸残基之间的氢键作用, IL阴离子为 $[\text{BF}_4]^-$, 实线表示了存在的氢键作用^[40](网络版彩图)

Figure 4 Hydrogen bonding between *Escherichia coli* and nitro-substituted carbonyl diimidazolium cation. The counter anion is $[\text{BF}_4]^-$ and the solid-lines represent the existed hydrogen-bonds ^[40] (color online).

由于ILs具有很高的区域选择性, 也成功应用于异环药物制剂(如抗生素、抗真菌剂、生物碱或心糖苷)的合成过程中^[46]. 在这些反应中, 氢键在决定反应的立体选择性方面起着至关重要的作用. 尽管氢键只有1~6 kcal/mol能量贡献, 但氢键通过形成刚性的三维结构影响构象偏好, 并有助于分子识别的亲力和选择性^[47]. 在分离APIs中, 疏水性ILs能够有效萃取如阿苯达唑、丹纳佐尔、对乙酰氨基酚等疏水药物, 且阳离子烷基链越长, 分离能力越显著. 使用 $[\text{C}_8\text{C}_1\text{im}][\text{PF}_6]$ 作为溶剂, 阿苯达唑的溶解选择性超过37000倍^[48]. 其微观机理与氢键也有重要关联, ILs的带电性导致形成局部氢键网络, 这些特殊微环境能和APIs形成有效作用, 成为主要分离驱动力^[49,50].

结晶是纯化APIs常用的方法, ILs能够有效地控制多晶型之间的转化, 以便得到所需的晶型, 在API纯化结晶过程中得到广泛应用^[50,51]. 一个典型例子是氯吡格雷硫酸氢盐(clopidogrel bisulfate, CLP), 其是一种具有抗血小板活性, 可用于治疗心绞痛、心律失常等疾病的药物. CLP多晶中, I型(亚稳态晶体)和II型(稳定晶体)具有活性, I型虽稳定, 但溶解性远远弱于II型. 在一般有机溶剂中I型到II型的转变非常快. An等^[50]使用ILs作为反溶剂, 结果双联咪唑氟硼酸盐离子液体(1,3-diallylimidazolium tetrafluoroborate, $[\text{AAIm}][\text{BF}_4]$)可诱导药物结晶, 并使得I型到II型的转变时间延长到3~4.5 h, 大大提高了II型的选择性. Martins等^[51]用混合ILs成功合成了加巴喷丁(gabapentin, GBP)的亚稳态IV型晶态, 通过MD模拟发现ILs和GBP通过 $\text{C}_{\text{acidic/mim}}$ -

$\text{H}\cdots\text{O}_{\text{carboxylate}}$ 形成的氢键是IV型晶态形成和稳定的主要驱动力, 如图5所示的作用方式.

3.4.2 氢键在合成API-ILs中的作用

鉴于传统的固体药物往往以结晶APIs为主, 固体APIs在制药或储药期间, 随时都有可能发生不可预测的多晶型或假多晶型转换现象, Rogers等^[52]提出了API-ILs概念, 利用脂肪酸和利多卡因(一种局部麻醉药), 合成了一种新的ILs衍生物药物, 这种衍生物呈现低共融态, 克服了固体药的缺点, 能够有效控制药物混合物的性质, 包括药物释放、稳定性、溶解性以及生物利用度等, 这也开创了API-IL的新药理念^[53]. 近几年开发了几种API-ILs药物, API主要涉及雷尼替丁、利多卡因、多库酯、布洛芬、普鲁卡因以及双活性ILs等^[9,54]. Hough等^[52]将抗溃疡药盐酸雷尼替丁(ranitidine hydrochloride, $[\text{Ran}]^+$)与多库酯钠(docusate sodium, $[\text{Doc}]^-$)组合成新的 $[\text{Ran}][\text{Doc}]$ IL, 成功消除了雷尼替丁固有的多晶型现象. 抗菌剂二癸基二甲基溴化铵(dimercaptodimethylammonium bromide, $[\text{DDA}]^+$)结合抗炎药布洛芬钠(ibuprofen sodium, $[\text{Ibu}]^-$)制备具有双重活性的 $[\text{DDA}][\text{Ibu}]$, 证明阴阳离子均可作为活性离子. 利多卡因(lidocaine hydrochloride, $[\text{Lid}]^+$)与多库酯钠(润肠剂)配对组合的 $[\text{Lid}][\text{Doc}]$ 具有改善药理学特性和新的生物活性特性, 与盐酸利多卡因相比, $[\text{Doc}]^-$ 离子配对可增强细胞膜通透性, 使利多卡因的局部镇痛疗效显著增强.

而API-ILs中超分子作用方式成为此类药物研发的一个核心问题. 基于咪唑水杨酸离子盐作用, Egoro-

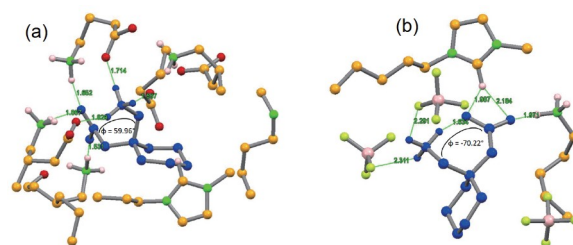


图 5 MD模拟IL和GBP之间氢键作用及不同晶型对应的超分子作用(虚线显示了氢键键长). (a) $[\text{C}_4\text{mim}][\text{BF}_4]$ 和GBP形成III晶型超分子作用. (b) $[\text{C}_6\text{mim}][\text{BF}_4]$ 和GBP形成IV晶型超分子作用(网络版彩图)

Figure 5 MD simulation on GBP supermolecular interactions formed in different ILs (the dashed lines show the length of hydrogen bonds). (a) GBP's form III in $[\text{C}_4\text{mim}][\text{BF}_4]$ IL; (b) GBP's form IV in $[\text{C}_6\text{mim}][\text{BF}_4]$ IL (color online).

va等^[55]提出了以下3种可能的作用方式: (1) IL阳离子与API通过静电和氢键连接, 形成具有API的新ILs; (2) API与IL之间的共价键连接, 保留原来ILs; (3) API与IL之间以氢键和共价键共同作用, 形成双重活性的ILs, 如图6所示。可以看出, 氢键是核心作用之一。当ILs与API配对后, 氢键有利于形成低熔点的纯液体盐, 同时还能控制API-ILs的物理化学性质, 如增加溶解度、更严格的液体范围(如在室温、体温或低于体温下为液体的盐)、熔点低于体温、玻璃化转变温度(T_{glass})和液-液转变温度显著降低等^[56]。Dean等^[57]发现, 从母体ILs到合成API-ILs, 熔点明显下降, 许多甚至没有结晶, 导致了“反晶(anti-crystal)现象”, 反晶与氢键强弱有直接的关联, 表现为氢键越弱, 反晶越明显, 熔点越低。可以利用氢键-反晶之间的关系调控API-ILs的结晶和熔点。例如, 胆碱苯妥因通过阴离子的NH-和C=O结合强氢键的二聚体, 晶体熔点高达215~217℃, 而吡啶斯

的明(pyridostigmine)或丙胺太林(propantheline)阳离子与糖精(saccharinate)阴离子组合的API-ILs的氢键作用较弱, T_{glass} 明显下降。

目前合成的API-ILs主要利用“低离子性”, 通过氢键结合形成液态共晶体或深共晶溶剂^[58]。许多ILs可通过调节理化性质并使用低毒性和生物相容性的离子组合, 产生具有生物活性的ILs^[9,59,60]。

3.5 氢键在ILs药物载体中的应用

许多与药物相关的研发中, 保留母体API原有活性的前提下, ILs作为药物载体, 能够调整固体形式药物的剂量, 改善药物的溶解度、生物利用度、渗透性、物理-化学稳定性甚至可简化加工程序等。

3.5.1 氢键在水溶性中的作用

水溶性方面, Rogers^[61]报道了阿昔洛韦(acyclovir)“离子化”(质子化形成相应阴离子或质子化形成相应的阳离子)后, 阴阳离子形成氢键作用, 与固体中性的阿昔洛韦相比, 所得药物水溶解度升高约6000倍。Jesus等^[62]合成的乙酰氨基酸胆碱ILs能够使扑热息痛(paracetamol)和双氯芬酸钠(sodium diclofenac)在水和无机盐中的溶解度提高4倍。这些氨基阳离子都带有-OH, 与两种API形成强的氢键作用是提高溶解度的主要内在动力^[56]。通过合理设计ILs, 能够改善药物水溶性的同时, 并有效调节亲水-亲脂平衡(hydrophilic lipophilic balance, HLB), 防止药物聚集。例如, 两性霉素B(amphotericin B), 由于具有长链烷基, 水溶性较差。可以设计一种IL, 阳离子为直链烷基铵羧酸, 而阴离子为 $[\text{OAc}]^-$ ($[\text{C}_n\text{NH}_3^+][\text{OAc}]$, $n=2, 4, 6$), 羧酸根阴离子($[\text{OAc}]^-$)作为氢键受体破坏分子内氢键, 增加药物溶解度, 直链烷基铵阳离子($[\text{C}_n\text{NH}_3^+]$)通过增加烷基链长度来改变药物亲脂性, 从而平衡HLB值^[63]。类似地, 对于伊曲康唑(itraconazole), 设计了聚乙二醇铵脂肪酸羧酸ILs (polyethylene glycolammonium fatty acid carboxylate, $[m\text{PEG}_{350}\text{-NH}_3^+][\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{-OAc}]$, $n=3, 5, 7, 9, 17$), 其中阳离子用于增加药物溶解度的同时阴离子防止药物聚集。

3.5.2 在透皮输送中的应用

由于API-ILs良好的渗透性, 在透皮递送药物治疗中展现了良好的应用前景。Tanner等^[64]利用胆碱与香

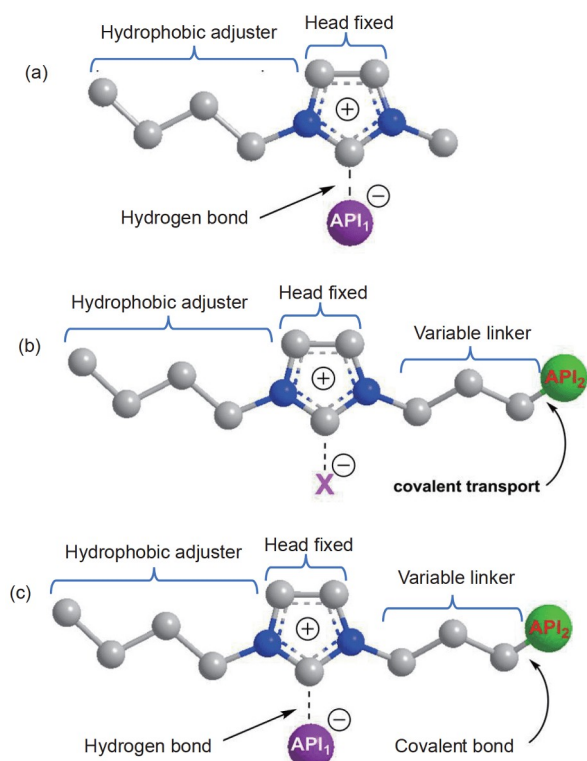


图6 API-ILs 3种相互作用类型。(a) 阳离子和API通过静电和氢键连接; (b) 阳离子和API通过共价键连接; (c) 阳离子和API通过共价键和氢键两个方式连接(网络版彩图)

Figure 6 Three types of interactions between ILs and APIs. (a) Linked by electronic and hydrogen bond; (b) covalently linked API within its cation; (c) linked by both covalent and hydrogen bond (color online).

叶酸合成(choline and geranic acid, CAGE) IL低深共晶溶剂,发现含过量香叶酸(1:2和1:4)时,其具有更好的胰岛素的透皮渗透性. Banerjee等^[65]使用CAGE作为载体制备了胰岛素口服剂,在增强胰岛素的细胞旁转运同时能规避胃肠道屏障,显著增强胰岛素口服吸收,改善糖尿病患者的生活质量. 其渗透机理与氢键有密切关系,正如Tanner等^[66]总结的,胆碱和香叶酸的-OH形成强的氢键作用,诱导了阴阳离子形成稳定的超分子结构或者离子簇,一方面由于阴离子疏水性,这些大的离子簇会驻留皮肤角质层,通过调控脂质的结构,从而调控和大幅度提高药物的渗入. MD模拟^[67]表明,强氢键作用使得IL与溶剂化药物分子产生强的作用,从而减少药物渗透到皮肤的概率,降低药物释放速率或释放量. 为了克服这一困难,最近Fang等^[68]利用一种策略来增加药物负荷,分别选择萘普生(NPX)和三戊胺(TAA)作为模型药物和相应的抗衡离子. 此外,选

择羧基压敏胶黏剂(PSA)作为模型聚合物,合成了API-IL(NPX-TAA). 通过比较图7a, b可知, PSA中载药量增加了5.0倍. NPX-TAA-PSA (30% PSA)的Raman光谱(图7c)发现, -COOH基团的O-H峰强度明显降低,并发生蓝移,表明两个NPX-TAA之间有新离子间相互作用,即NPX-TAA和PSA-COO⁻形成新的氢键作用与原来的NPX-TAA和PSA羧基之间的氢键(PSA中C=O峰的红移)的协同作用引起的. 另外, X射线光电子能谱学(XPS)实验(新的峰, 结合能400.0 eV)建议TAA的-NH⁺是离子间形成氢键的分子基础,说明氢键作用是提高ILs药物透皮输送的主要驱动力.

体外24-h实验表明, NPX和NPX-TAA的药物释放率分别达到72.4%±2.2%和80.8%±1.8%, IL实现了更高的药物释放效率. 而体外的皮肤渗透实验表明, 两者的药物渗透量分别为42.8±3.8和144.4±19.7 μg/cm², 如图7d所示, 这也说明IL在没有影响药物释放的前提下,

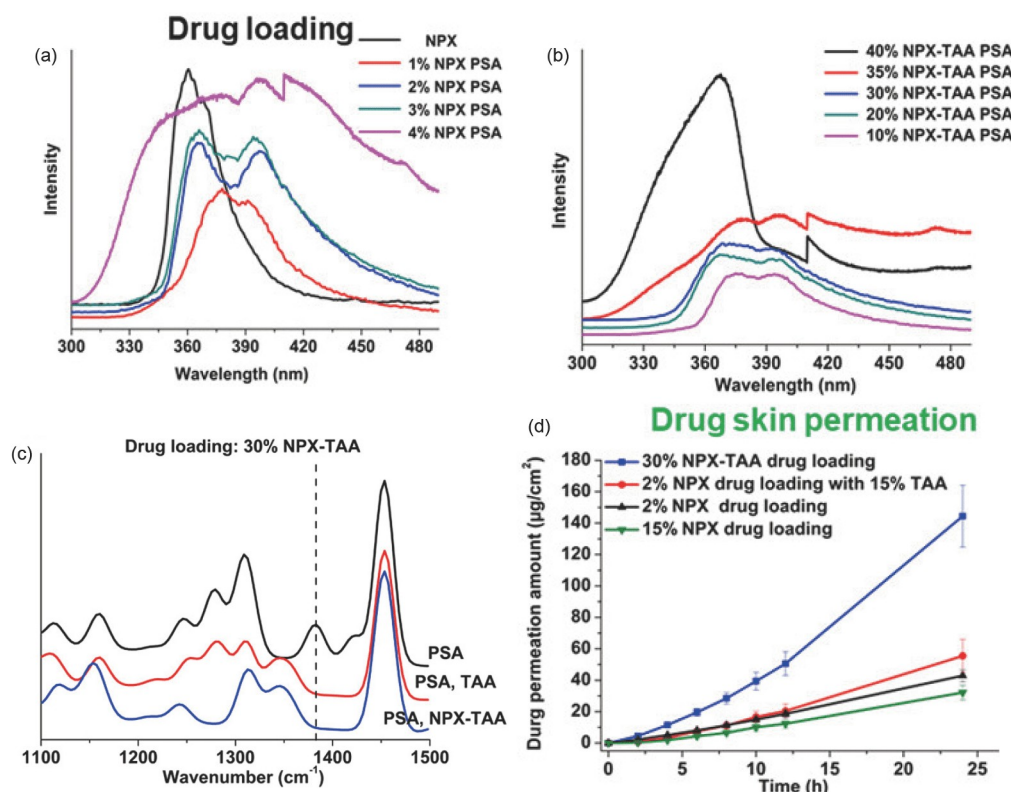


图7 离子液体提高透皮贴剂载药量及药物释放. (a) NPX和(b)补丁中的NPX-TAA的荧光光谱; (c) NPX-TAA和PSA在低药物装载下的相互作用的拉曼光谱; (d) 24 h内NPX和NPX-TAA的皮肤渗透量^[68] (网络版彩图)

Figure 7 Enhanced drug loading and drug releasing in the drug-in-adhesive transdermal patch utilizing a ILs strategy. Fluorescence spectra for (a) NPX and (b) NPX-TAA in patches; (c) Raman spectra for characterization of interaction between NPX-TAA and PSA at low drug loading; (d) Skin permeation profiles of NPX and NPX-TAA from patches in 24 h ($n = 4$) ^[68] (color online).

能有效地抑制药物的重结晶, 对药物输送有重要意义。机理的解释可以来自Rogers等^[69]的工作, 在API-ILs的DES中APIs通过牢固的氢键作用, 即使在溶液中也紧密结合在一起, 从而使得传输速率远高于商业可用的结晶盐为开发高药物负荷高释放透皮贴提供了有力工具。

4 总结

ILs具有许多特殊性质, 在生物医药领域展现了巨大的应用潜力。本文中, 我们通过ILs在DNA稳定、抗肿瘤治疗及药物合成三方面的典型应用, 阐述了ILs氢键的生物作用和病理作用, 为ILs在生物医药领域结构-性质构效关系方面的研究提供了分子基础。

尽管如此, ILs种类繁多, 结构复杂, 由此而带来的微观生物机制变得异常复杂, 即使最先进的实验仪器也很难观察离子键细微的变化所带来的性质改变, 及其对生物作用(如蛋白质的溶解)所带来的影响。要解决生物相容性机理不清楚的局面, 需要从结构出发, 发展新的实验手段的同时, 建立相应的模拟技术, 提供从结构到性质的预测方法和高通量筛选技术。另一个重要的方面是, 不同领域的专家需要实质性的合作, 生物学家需要从生物角度重新理解ILs, 以便跟上新治

疗方法的步伐, 药学家应该利用ILs作为药用药物载体, 克服固体药物的多晶型转换、溶解度差和生物利用度低等带来的问题, 以及作为药物活性组分, 构成API-ILs这一新型的给药体系, 提高药物研发的成功率。而物理学家和化学家需要寻找证明结构的技术以及ILs的纯化方法, 用于鉴定某些络合物、游离离子或解离的酸。

在现代医药领域中, 一方面, ILs作为溶剂、药物载体等, 为规避固体药物的多晶型转换、溶解度差和生物利用度低等问题提供了解决方案; 另一方面, ILs能作为活性组分, 构成API-ILs新型的给药体系, 解决了固体药物的许多固有的缺点。然而需要对API-ILs给出临床的评估, 包括镇痛、抗微生物活性、抗癌活性以及毒性, 尤其毒性是主要的阻碍临床应用的因素之一。ILs对生物体的毒性机理亟待明确, 如对细胞的毒性, 实验研究相当复杂, 最重要的是结合模拟计算, 从分子水平揭示ILs和不同细胞组织的作用机制, 明确ILs毒性的生物机理, 同时开展对ILs直接基因毒性的理论研究。在此基础上, 开展ILs作为“类药物”的ADMET研究, 建立共享的IL的ADMET数据库, 提供从人工智能预测ILs性质和应用预测的算法模型, 提供安全性认识的基础数据。

参考文献

- 1 Dong K, Liu X, Dong H, Zhang X, Zhang S. *Chem Rev*, 2017, 117: 6636–6695
- 2 Hayes R, Warr GG, Atkin R. *Chem Rev*, 2015, 115: 6357–6426
- 3 Zhang S, Lv Y, He H, Huo F, Wang Y, Zhang X, Dong K. *Chin J Process Eng*, 2017, 17: 883–884 (in Chinese) [张锁江, 吕玉苗, 何宏艳, 霍锋, 王艳磊, 张晓春, 董坤. 过程工程学报, 2017, 17: 883–884]
- 4 Zeng S, Zhang X, Bai L, Zhang X, Wang H, Wang J, Bao D, Li M, Liu X, Zhang S. *Chem Rev*, 2017, 117: 9625–9673
- 5 Xia Y, Zhang Y, Su Q, Dong K. *ChemSusChem*, 2020, cssc.202001447
- 6 Dong K, Huo F, Zhang S. *Green Energy Environ*, 2020, 5: 251–258
- 7 Gao Q, Zhang Y, Xu S, Laaksonen A, Zhu Y, Ji X, Lu X. *Green Energy Environ*, 2020, 5: 274–285
- 8 Yang Q, Zhang Z, Sun XG, Hu YS, Xing H, Dai S. *Chem Soc Rev*, 2018, 47: 2020–2064
- 9 Egorova KS, Gordeev EG, Ananikov VP. *Chem Rev*, 2017, 117: 7132–7189
- 10 Zheng L, Li J, Yu M, Jia W, Duan S, Cao D, Ding X, Yu B, Zhang X, Xu FJ. *J Am Chem Soc*, 2020, 142: 20257–20269
- 11 Wyrzykowska E, Rybińska-Fryca A, Sosnowska A, Puzyn T. *Green Chem*, 2019, 21: 1965–1973
- 12 Zhang X, Zeng S, Feng J, Su Q, Liu L, Huang Y, Zhang S. *Sci Sin Chim*, 2020, 50: 282–298 (in Chinese) [张香平, 曾少娟, 冯佳奇, 苏倩, 刘磊, 黄玉红, 张锁江. 中国科学: 化学, 2020, 50: 282–298]
- 13 Shamshina JL, Kelley SP, Gurau G, Rogers RD. *Nature*, 2015, 528: 188–189
- 14 Gomes JM, Silva SS, Reis RL. *Chem Soc Rev*, 2019, 48: 4317–4335
- 15 Cao J, Mou Y, Chen Y, Wei T, Wang C. *Acta Pharmaceut Sin*, 2019, 54: 245–257 [曹建平, 牟永晓, 陈媛媛, 卫涛, 王朝杰. 药学学报, 2019, 54: 245–257]

- 16 Dong K, Zhang S, Wang J. *Chem Commun*, 2016, 52: 6744–6764
- 17 Roth C, Peppel T, Fumino K, Köckerling M, Ludwig R. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 10221–10224
- 18 Neumann J, Paschek D, Strate A, Ludwig R. *J Phys Chem B*, 2021, 125: 281–286
- 19 Khudozhnikov AE, Neumann J, Niemann T, Zaitsau D, Stange P, Paschek D, Stepanov AG, Kolokolov DI, Ludwig R. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 17863–17871
- 20 Dong K, Zhang S, Wang Q. *Sci China Chem*, 2015, 58: 495–500
- 21 Dereka B, Yu Q, Lewis NHC, Carpenter WB, Bowman JM, Tokmakoff A. *Science*, 2021, 371: 160–164
- 22 Weinhold F, Klein RA. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 11214–11217
- 23 Chen J, Dong K, Liu L, Zhang X, Zhang S. *Phys Chem Chem Phys*, 2021, 23: 7426–7433
- 24 Li H, Lu Y, Wu W, Liu Y, Peng C, Liu H, Zhu W. *Phys Chem Chem Phys*, 2013, 15: 4405–4414
- 25 Weber CC, Kulkarni SA, Kunov-Kruse AJ, Rogers RD, Myerson AS. *Cryst Growth Des*, 2015, 15: 4946–4951
- 26 Kelley SP, Narita A, Holbrey JD, Green KD, Reichert WM, Rogers RD. *Cryst Growth Des*, 2013, 13: 965–975
- 27 Wang JH, Cheng DH, Chen XW, Du Z, Fang ZL. *Anal Chem*, 2007, 79: 620–625
- 28 Ding Y, Zhang L, Xie J, Guo R. *J Phys Chem B*, 2010, 114: 2033–2043
- 29 Chandran A, Ghoshdastidar D, Senapati S. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 20330–20339
- 30 Marušič M, Tateishi-Karimata H, Sugimoto N, Plavec J. *Biochimie*, 2015, 108: 169–177
- 31 Nakano M, Tateishi-Karimata H, Tanaka S, Sugimoto N. *J Phys Chem B*, 2014, 118: 379–389
- 32 Sarkar S, Rajdev P, Singh PC. *Phys Chem Chem Phys*, 2020, 22: 15582–15591
- 33 Dinis TBV, Sousa F, Freire MG. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 547857
- 34 Dias AR, Costa-Rodrigues J, Fernandes MH, Ferraz R, Prudêncio C. *ChemMedChem*, 2017, 12: 11–18
- 35 Aljuhani A, Aouad MR, Rezki N, Aljaldy OA, Al-Sodies SA, Messali M, Ali I. *J Mol Liq*, 2019, 285: 790–802
- 36 Lv X, Chen K, Shi G, Lin W, Bai H, Li H, Tang G, Wang C. *Sci Adv*, 2020, 6: eabb7788
- 37 Anvari S, Hajfarajollah H, Mokhtarani B, Enayati M, Sharifi A, Mirzaei M. *J Mol Liq*, 2016, 221: 685–690
- 38 Yu J, Zhang S, Dai Y, Lu X, Lei Q, Fang W. *J Hazard Mater*, 2016, 307: 73–81
- 39 Muñoz-Bonilla A, Fernández-García M. *Eur Polym J*, 2018, 105: 135–149
- 40 Ganapathi P, Ganesan K, Vijaykanth N, Arunagirinathan N. *J Mol Liq*, 2016, 219: 180–185
- 41 Subhedar DD, Shaikh MH, Nawale L, Yeware A, Sarkar D, Khan FAK, Sangshetti JN, Shingate BB. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 2278–2283
- 42 Subhedar DD, Shaikh MH, Kalam Khan FA, Sangshetti JN, Khedkar VM, Shingate BB. *New J Chem*, 2016, 40: 3047–3058
- 43 Tao Y, Dong R, Pavlidis IV, Chen B, Tan T. *Green Chem*, 2016, 18: 1240–1248
- 44 Orling KM, Wu X, Russo F, Larhed M. *J Org Chem*, 2008, 73: 8627–8630
- 45 Earle MJ, Seddon KR, McCormac PB. *Green Chem*, 2000, 2: 261–262
- 46 Martins MAP, Frizzo CP, Moreira DN, Zanatta N, Bonacorso HG. *Chem Rev*, 2008, 108: 2015–2050
- 47 Dalko PI, Moisan L. *Angew Chem Int Ed*, 2001, 40: 3726–3748
- 48 Mizuuchi H, Jaitely V, Murdan S, Florence AT. *Eur J Pharm Sci*, 2008, 33: 326–331
- 49 Dong K, Cao Y, Yang Q, Zhang S, Xing H, Ren Q. *Ind Eng Chem Res*, 2012, 51: 5299–5308
- 50 An JH, Jin F, Kim HS, Ryu HC, Kim JS, Kim HM, Kim KH, Kiyonga AN, Jung K. *Cryst Growth Des*, 2016, 16: 1829–1836
- 51 Martins ICB, Gomes JRB, Duarte MT, Mafra L. *Cryst Growth Des*, 2017, 17: 428–432
- 52 Hough WL, Smiglak M, Rodriguez H, Swatloski RP, Spear SK, Daly DT, Pernak J, Grisel JE, Carliss RD, Soutullo MD, Davis Jr. JH, Rogers RD. *New J Chem*, 2007, 31: 1429–1436
- 53 Bica K, Shamshina J, Hough WL, MacFarlane DR, Rogers RD. *Chem Commun*, 2011, 47: 2267–2269
- 54 Rogers RD, Daly DT, Swatloski RP, Hough WL, Davis JR JH, Smiglak M, Pernak J, Spear SK. Multi-functional ionic liquid compositions for overcoming polymorphism and imparting improved properties for active pharmaceutical, biological, nutritional, and energetic ingredients. US Patent. US-8232265-B2, 2012-07-31
- 55 Egorova KS, Seitkalieva MM, Posvyatenko AV, Khrustalev VN, Ananikov VP. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6: 1099–1104
- 56 Zeindlhofer V, Schröder C. *Biophys Rev*, 2018, 10: 825–840

- 57 Dean PM, Turanjanin J, Yoshizawa-Fujita M, MacFarlane DR, Scott JL. *Cryst Growth Des*, 2009, 9: 1137–1145
- 58 Bevill MJ, Vlahova PI, Smit JP. *Cryst Growth Des*, 2014, 14: 1438–1448
- 59 Toledo Hijo AAC, Maximo GJ, Costa MC, Batista EAC, Meirelles AJA. *ACS Sustain Chem Eng*, 2016, 4: 5347–5369
- 60 Claus J, Sommer FO, Kragl U. *Solid State Ion*, 2018, 314: 119–128
- 61 Rogers RD. Nucleoside analog salts with improved solubility and methods of forming same. US Patent. US20160002240A1, 2014-09-18
- 62 Jesus AR, Soromenho MRC, Raposo LR, Esperança JMSS, Baptista PV, Fernandes AR, Reis PM. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, 137: 227–232
- 63 McCrary PD, Beasley PA, Gurau G, Narita A, Barber PS, Cojocaru OA, Rogers RD. *New J Chem*, 2013, 37: 2196–2202
- 64 Tanner EEL, Ibsen KN, Mitragotri S. *J Control Release*, 2018, 286: 137–144
- 65 Banerjee A, Ibsen K, Brown T, Chen R, Agatemor C, Mitragotri S. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 7296–7301
- 66 Tanner EEL, Curreri AM, Balkaran JPR, Selig-Wober NC, Yang AB, Kendig C, Fluhr MP, Kim N, Mitragotri S. *Adv Mater*, 2019, 31: 1901103
- 67 Tanner EEL, Piston KM, Ma H, Ibsen KN, Nangia S, Mitragotri S. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, 5: 3645–3653
- 68 Yang D, Liu C, Piao H, Quan P, Fang L. *Mol Pharm*, 2021, 18: 1157–1166
- 69 Wang H, Gurau G, Shamshina J, Cojocaru OA, Janikowski J, MacFarlane DR, Davis JH, Rogers RD. *Chem Sci*, 2014, 5: 3449

Hydrogen-bond in ionic liquids and its application in biomedicine

Kun Dong, Suojia Zhang*

Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

**Corresponding author (email: sjzhang@ipe.ac.cn)*

Abstract: Ionic liquids (ILs) have shown great application potential and drawn broad interests in the field of biomedicine. Despite some important progress, the study of the bio. compatibility and the structure-activity relationship of ILs has just started, and the mechanism is completely unclear, which is a bottleneck in its biological applications. The hydrogen-bonds between ions have become the molecular basis for revealing the biological mechanism. This work introduces the latest development of ILs in biomedicine fields by three typical examples, DNA stabilization, anti-tumor therapy, and API-ILs drug synthesis, recrystallization and release, and details the principle and pathological effects of the hydrogen-bonds. These conclusions can provide knowledge basis for the development of new ILs biomedicine applications.

Keywords: ionic liquids, hydrogen-bond, DNA stabilization, anti-tumor therapy, ionic liquid drugs

doi: [10.1360/SSC-2021-0112](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0112)