



ZnO 基葡萄糖响应性药物载体的制备与性能

尹子楚, 林敏婕, 程修文, 杨云聪, 蔡玉荣

(浙江理工大学材料科学与工程学院, 杭州 310018)

摘要: 采用溶剂热法制备氨基化的介孔 ZnO 纳米颗粒, 通过酰胺化反应将经过 EDC/NHS 活化的 4-羧基苯硼酸 (CPBA) 结合到氨基化 ZnO 纳米颗粒上, 并负载降糖药二甲双胍; 利用苯硼酸能与邻二醇结合的原理, 进一步在纳米颗粒表面修饰海藻酸钠 (SA), 得到具有葡萄糖响应性的 SA/CPBA/ZnO 药物载体; 通过 SEM、XRD、FTIR、氮气吸脱附法、Zeta 电位等方式对氨基化 ZnO、CPBA/ZnO、SA/CPBA/ZnO 进行表征。结果表明: CPBA 和 SA 成功结合到氨基化 ZnO 的表面; SA/CPBA/ZnO 具有葡萄糖响应性, 当葡萄糖浓度为 4 mg/mL 时, 12 h 内药物累计释放率为 71.8%, 比在 1 mg/mL 葡萄糖溶液中增加了 26.4%, 累计释放率在一定范围内与葡萄糖浓度正相关; SA/CPBA/ZnO 具有良好的生物相容性, 具备作为葡萄糖响应性药物递送体系载体的潜力。

关键词: 氧化锌; 苯硼酸; 葡萄糖响应; 药物载体

中图分类号: TB33

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2021)09-0581-07

Preparation and properties of ZnO-based glucose-responsive drug carrier

YIN Zichu, LIN Minjie, CHENG Xiuwen, YANG Yuncong, CAI Yurong

(School of Materials Science & Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: Aminated mesoporous ZnO nanoparticles were prepared by solvothermal method, and 4-carboxyphenylboronic acid (CPBA) activated by EDC/NHS was bound to ZnO nanoparticles by means of amidation reaction, and then the hypoglycemic drug metformin was loaded. Based on the principle that phenylboronic acid can be combined with vicinal diol, sodium alginate (SA) is further modified on the surface of nanoparticles to obtain a glucose-responsive SA/CPBA/ZnO drug carrier. The aminated ZnO, CPBA/ZnO and SA/CPBA/ZnO were characterized by SEM, XRD, FTIR, nitrogen adsorption and desorption method, and Zeta potential, etc. The results show that CPBA and SA are successfully bonded to the surface of aminated ZnO. SA/CPBA/ZnO has glucose responsiveness. When the glucose concentration is 4 mg/mL, the cumulative drug release rate within 12 h is 71.8%, which was 26.4% higher than that in 1 mg/mL glucose solution. The cumulative release rate is positively correlated with glucose concentration within a certain range. In addition, SA/CPBA/ZnO has good biocompatibility and the potential as a delivery carrier of glucose-responsive drug.

Key words: zinc oxide; phenylboronic acid; glucose-responsive; drug carrier

0 引言

糖尿病已经成为一种普遍的代谢性疾病, 主要以高血糖为基本特征, 并伴有体内蛋白质代谢紊乱,

甚至还会出现多种并发症^[1]。目前, 全球约有 4.2 亿糖尿病患者, 据推算, 到 2045 年, 糖尿病患者的人数将会达到 6.93 亿^[2]。治疗糖尿病最常见的方法是注射胰岛素并定期监测血糖水平, 但该方法可能

会导致患者血糖波动,从而进一步加剧患者的病情^[3-5]。因此,为了保持血糖稳定,设计一种葡萄糖响应性的药物递送体系意义重大。葡萄糖药物递送体系可以在无葡萄糖条件下或低葡萄糖浓度下缓慢释放药物,而在高葡萄糖浓度下发生明显响应,释放更多药物,实现智能化给药,降低血糖波动以及低血糖的风险^[6]。

葡萄糖响应性药物递送体系通常是由药物载体与葡萄糖响应性结构单元组成。药物载体具有良好的药物负载能力,可以是凝胶、囊泡、胶束、纳米颗粒等^[7-10]。葡萄糖响应性结构单元主要有葡萄糖氧化酶、苯硼酸衍生物和伴刀豆蛋白等^[11]。对于苯硼酸衍生物来说,苯硼酸可以与含有1,2或1,3-邻二醇结构的物质结合形成可逆的硼酸酯键。此外,如果体系中存在多种含邻二醇结构的物质,苯硼酸会优先与键合常数较高的化合物结合,这将导致其对葡萄糖高度敏感,因此苯硼酸衍生物常常用作葡萄糖响应性的敏感单元^[12-13]。

本文首先利用溶剂热法,制备得到氨基化 ZnO 颗粒,利用氨基化 ZnO 与 CPBA 通过酰胺化反应得到 CPBA/ZnO,再利用具有邻二醇结构的 SA 与 CPBA 结合形成可逆的共价键,包封纳米颗粒,得到 SA/CPBA/ZnO,并对其进行表征;然后在 SA/CPBA/ZnO 中负载降糖药物二甲双胍,研究其在不同浓度的葡萄糖溶液中药物释放情况;最后以 HeLa 细胞为模型,对 SA/CPBA/ZnO 的细胞毒性进行了体外评价,通过以上实验期望得到一种具有葡萄糖响应性且生物相容性良好的药物递送体系。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

二水醋酸锌($C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$)、盐酸多巴胺($C_8H_{11}NO_2 \cdot HCl$)、三乙二醇($C_6H_{14}O_4$)、4-羧基苯硼酸($C_7H_7BO_4$)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐($C_8H_{17}N_3 \cdot HCl$)、N-羟基琥珀酰亚胺($C_4H_5NO_3$)、茜素红($C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$)、海藻酸钠($(C_6H_7O_6Na)_n$)、葡萄糖($C_6H_{12}O_6$)和盐酸二甲双胍($C_4H_{12}ClN_5$),均购于上海阿拉丁生化有限公司;DMEM 培养基、胰蛋白酶、青链霉素混合液、胎牛血清和 CCK-8,均购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 氨基化 ZnO 的制备

参考 Alipour 等^[14]和 Huang 等^[15]的方法,制备氨基化的介孔 ZnO 纳米颗粒,具体方法如下:将

40 mL 三乙二醇加入到三颈烧瓶中,在 110 °C 条件加热处理 1 h 后,加入 185 mg 二水醋酸锌和 10 mg 盐酸多巴胺,在氮气条件下升温至 195 °C,搅拌 2 h,得到氨基化的 ZnO 纳米颗粒,离心分离出沉淀,用乙醇洗涤,于 50 °C 真空烘箱中干燥。

1.3 SA/CPBA/ZnO 的制备

将 CPBA、EDC、NHS 以质量比 6:2:1 按顺序溶解于 DMSO 中,在室温下活化 1 h,再在其中加入 100 mg 氨基化 ZnO,室温下继续反应 3 h,得到 CPBA/ZnO,离心洗涤后,于 50 °C 真空烘箱干燥,制得 CPBA/ZnO 颗粒。称取 10 mg 海藻酸钠溶于去离子水中,将收集得到的 CPBA/ZnO 加入到海藻酸钠溶液中搅拌反应 3 h,得到 SA/CPBA/ZnO,离心洗涤后于 50 °C 真空烘箱干燥。

1.4 载药 SA/CPBA/ZnO 的制备

在 1.3 中制备得到的 CPBA/ZnO 的基础上,将 20 mg CPBA/ZnO 分散于 5 mL 浓度为 1 mg/mL 的二甲双胍水溶液中,通过物理吸附的方式进行药物负载,24 h 后再加入一定量的海藻酸钠反应 3 h,离心洗涤后于 50 °C 真空烘箱干燥得到载药后的 SA/CPBA/ZnO。

1.5 性能表征

1.5.1 理化性质

采用场发射扫描电子显微镜(Ultra 55,德国 Carl Zeiss)分析样品表面形貌,加速电压为 3 kV。采用 X 射线衍射仪(K-Alpha,美国 Thermo Fisher Scientific)分析样品的晶体结构,测试范围为 20°~80°,扫描速率为 5 (°)/min。采用傅里叶红外光谱(Nicolet 5700,美国 Thermo Electron)分析样品的化学组成,测试范围为 400~4000 cm^{-1} 。采用纳米粒度及 Zeta 电位仪(Malvern Zetasizer,英国 Malvern)分析样品粒径以及表面电性,测试温度为 25 °C。采用孔结构分析仪(3H-2000PS1 型)测定样品的孔直径和比表面积,脱气温度为 120 °C,脱气时间为 2 h。

1.5.2 CPBA/ZnO 葡萄糖响应性考察

将 20 mg CPBA/ZnO 分散在 5×10^{-6} mol/L 的茜素红(ARS)水溶液中,避光浸泡 12 h 后,离心,洗涤,干燥,获得负载了 ARS 的 CPBA/ZnO 纳米颗粒(ARS/CPBA/ZnO),用于考察该颗粒对葡萄糖响应性。将 20 mg 该颗粒分别分散于 20 mL 葡萄糖水溶液中(0.1 mg/mL 和 4 mg/mL)3 h 后,利用荧光发射光谱(LS-45,美国 PerkinElmer)测定其荧光强度,激发波长为 460 nm,发射波长为 550 nm。

1.5.3 药物吸附与缓释分析

采用紫外可见分光光度计(UH4150,日本日立)在 233 nm 处测定不同浓度二甲双胍水溶液对应的吸光度,得到二甲双胍标准曲线。取载药后的上清液,稀释 200 倍后通过紫外分光光度计测定其在 233 nm 处的吸光度,可以得到 M_{unloaded} , 药物负载量 LC 的计算公式如下:

$$LC/\% = \frac{M_{\text{raw}} - M_{\text{unloaded}}}{M_{\text{CPBA/ZnO}}} \times 100 \quad (1)$$

其中: M_{raw} 为载药前药物的质量, g; M_{unloaded} 为载药后上清液药物的质量, g。

取 20 mg 载药后的 SA/CPBA/ZnO 分别分散于 10 mL 去离子水中、10 mL 浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖溶液中和 10 mL 浓度为 4 mg/mL 的葡萄糖溶液中,置于 37 °C 的摇床中进行药物释放,每隔 1 h 取上清液 30 μL ,并补加 30 μL 对应介质。通过紫外可见分光光度计测定上清液在 233 nm 处的吸光度,代入二甲双胍水溶液的标准曲线计算药物浓度,得到药物累计释放率。

1.5.4 细胞毒性评价

采用 CCK-8 法对 SA/CPBA/ZnO 进行细胞毒性测试,将对数生长期的 HeLa 细胞接种于 96 孔板中,孔板外周每孔加入 200 μL PBS 缓冲液,在含有细胞的孔中加入 100 μL 培养基,使细胞贴壁生长,培养基按照 DMEM、胎牛血清、青链霉素体积比 90:9:1 的比例配置混合液。24 h 后弃去原培养基,在对照组孔中加入 100 μL 培养基,实验组中分别加入 100 μL 含不同 SA/CPBA/ZnO 量的培养基(浓度分别为 10、20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$),每组设置 6 个复孔。24 h 后,观察细胞形态并用倒置显微镜拍摄细胞形貌,再在每孔加入 10 μL CCK-8,将孔板至于培养箱 1 h 后取出,置于酶标仪中于 450 nm 处读数,细胞存活率 CSR 的计算公式如下:

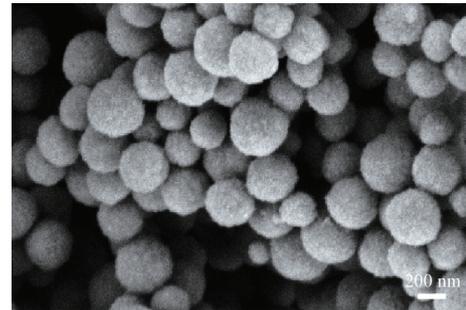
$$CSR/\% = \frac{OD_{450 \text{ nm}}(\text{实验组})}{OD_{450 \text{ nm}}(\text{对照组})} \times 100 \quad (2)$$

2 结果与讨论

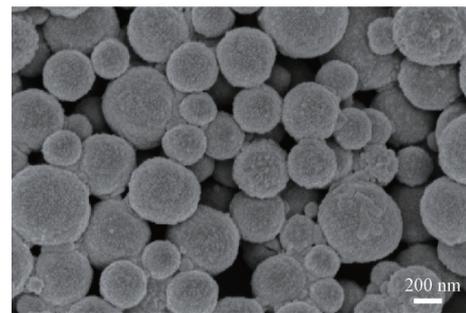
2.1 CPBA/ZnO 和 SA/CPBA/ZnO 的结构表征

SEM 对所得样品的形貌进行表征的结果如图 1 所示。由图 1(a)可知,氨基化 ZnO 为尺寸均匀的球形,具有较好的分散性。图 1(b)–(c)表明经过修饰后得到的 CPBA/ZnO 与 SA/CPBA/ZnO 仍可以保持球形结构,SA/CPBA/ZnO 的表面形貌发生

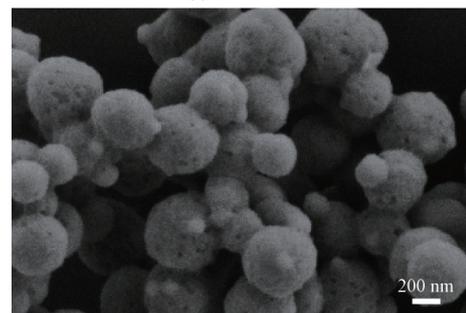
明显变化,其原因可能是由于表面包覆了多糖物质 SA 的缘故。



(a) 氨基化 ZnO



(b) CPBA/ZnO



(c) SA/CPBA/ZnO

图 1 氨基化 ZnO、CPBA/ZnO 和 SA/CPBA/ZnO 的 SEM 图

利用纳米粒度仪分析样品粒径,结果表明,在每一步修饰之后,微粒的尺寸发生变化(图 2)。图 2(a)是氨基化 ZnO 的粒径分布图,其平均水合直径为 342 nm。图 2(b)–(c)分别是 CPBA/ZnO 和 SA/CPBA/ZnO 的粒径分布图,经过 CPBA 的修饰后,CPBA/ZnO 的平均水合直径增大为 379 nm。修饰 SA 后,由于表面结合一层多糖,SA/CPBA/ZnO 的平均水合直径进一步增大至 435 nm,说明 CPBA 以及 SA 已修饰成功。

利用 XRD 对所得样品的化学成分进行了表征结果如图 3 所示。由图 3 可知,所制备的氨基化 ZnO 在 2θ 值为 31.9°、34.5°、36.4°、47.8°、56.9°、62.8°和 67.7°处均出现了明显的衍射峰,分别对应于 ZnO 晶体的(001)、(002)、(101)、(102)、(110)、(103)、(112)晶面(JCPDS 36-1451),其峰形较尖锐,表明颗粒结晶度良好;CPBA/ZnO 的衍射图谱

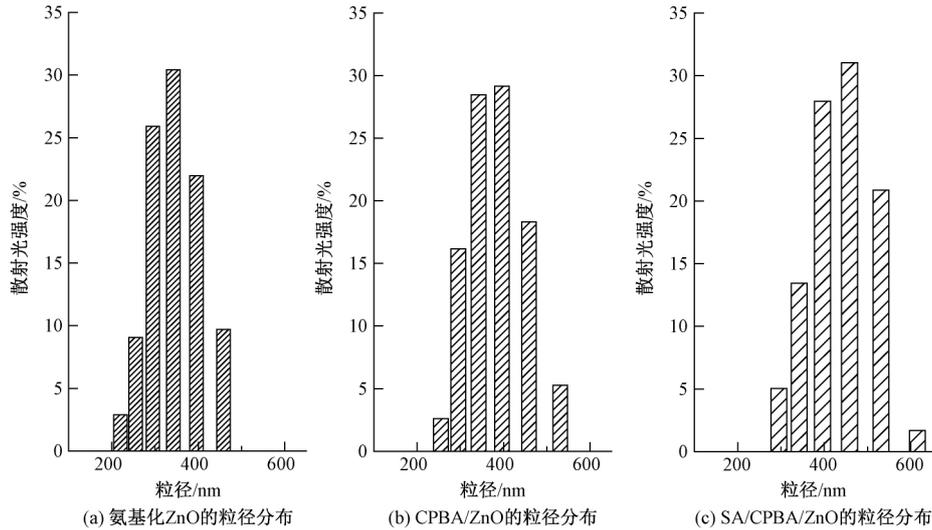


图2 氨基化 ZnO、CPBA/ZnO、SA/CPBA/ZnO 的粒径分布

与氨基化 ZnO 的衍射图相似,说明其主要成分依然是 ZnO,图谱中的衍射峰均发生了宽化,说明 CPBA/ZnO 的结晶度略有下降。而与氨基化 ZnO 和 CPBA/ZnO 相比,样品 SA/CPBA/ZnO 的衍射峰强度明显下降,衍射峰最弱,其原因可能是因为颗粒表面覆盖 SA 的缘故。

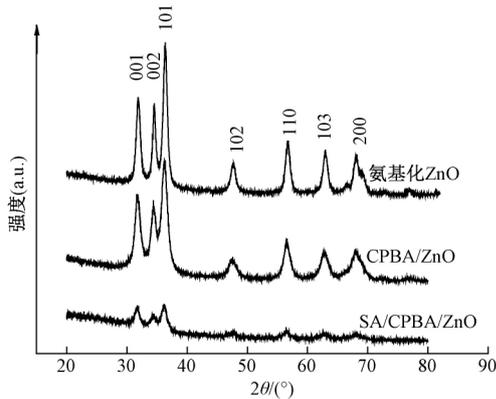


图3 氨基化 ZnO、CPBA/ZnO、SA/CPBA/ZnO 的 XRD 图谱

利用 FTIR 对所得样品进行了分析,结果如图 4 和图 5 所示。由图 4—图 5 可知,475 cm^{-1} 附近的强峰对应 Zn—O 的伸缩振动,与 ZnO 相比,氨基化的 ZnO 保留了 475 cm^{-1} 附近的峰,而在 2926 cm^{-1} 与 2856 cm^{-1} 处出现了 C—H 的不对称与对称振动;在 1500 cm^{-1} 附近出现了芳环的骨架振动,这是由于多巴胺的加入导致的。CPBA/ZnO 的红外光谱在 1320 cm^{-1} 处出现了新的特征峰,对应的是 B—O 键的特征峰,说明 CPBA 的存在;1655 cm^{-1} 对应的是酰胺键的峰,说明苯硼酸是通过酰胺化反应结合到氨基化 ZnO 上的;由于 SA 的邻二醇结构与 CPBA 发生可逆结合从而导致 B—O 键的消失,SA/CPBA/ZnO 的红外光谱图中,1320 cm^{-1} 处的

红外峰明显减弱,1500 cm^{-1} 处的峰强度也减弱,该位置的峰对电负性变化较为敏感,SA 的加入增加了电负性使得该位置的峰强度减弱^[10,16]。以上结果表明,SA/CPBA/ZnO 构建成功。

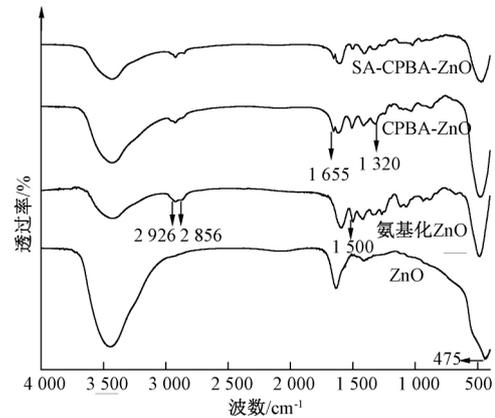


图4 ZnO、氨基化 ZnO、CPBA/ZnO、SA/CPBA/ZnO 的 FTIR 图谱

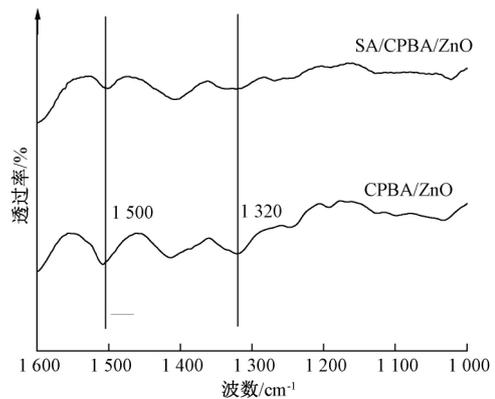


图5 CPBA/ZnO、SA/CPBA/ZnO 的 FTIR 图谱

利用孔结构分析仪分别测定 CPBA/ZnO 与 SA/CPBA/ZnO 的孔直径和比表面积,测试结果如图 6 所示。图 6(a)中 CPBA/ZnO 的氮气吸附-脱附

等温线是具有滞后环的 IV 型等温线,证实其含有介孔结构,为药物的负载提供了空间;CPBA/ZnO 的比表面积为 $63.9 \text{ m}^2/\text{g}$,SA/CPBA/ZnO 的比表面积为 $9.8 \text{ m}^2/\text{g}$,说明 SA 成功修饰在 CPBA/ZnO 表面掩盖了原本的孔结构导致比表面积下降。图 6(b) 是孔径-微分孔体积的分布图,CPBA/ZnO 具有 4 nm 的孔径,而相比于 CPBA/ZnO,SA/CPBA/ZnO 的孔结构明显减弱,说明 SA 的成功修饰,为防止药物提前释放提供可能。

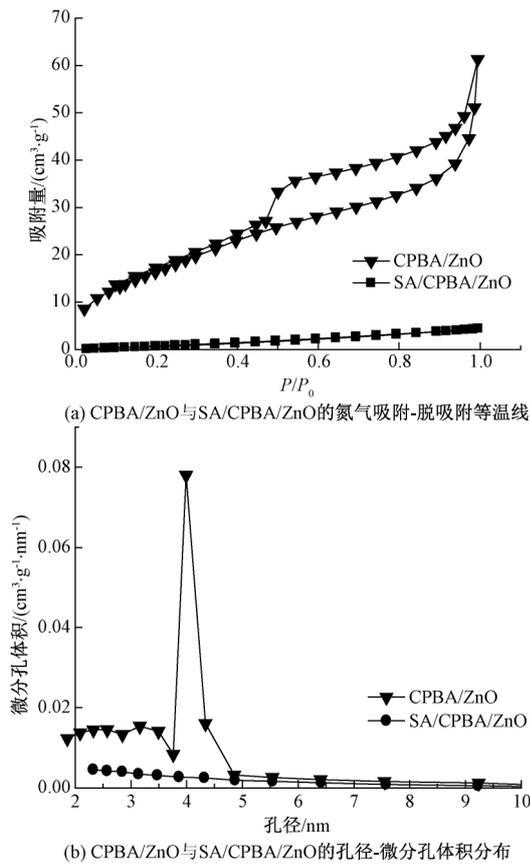


图 6 CPBA/ZnO 与 SA/CPBA/ZnO 的氮气吸附脱附曲线及孔径分布曲线

利用 Zeta 电位仪分析了氨基化 ZnO、CPBA/ZnO、SA/CPBA/ZnO 分散于水中的 Zeta 电位,数值分别为 $+20.4$ 、 $+6.8$ 、 -14.2 mV ,由于氨基的质子化,氨基化 ZnO 带明显的正电,而经过 CPBA 修饰后,与 FTIR、粒径分析和 BET 分析得出的结论相一致,说明 CPBA 与 SA 的成功修饰。

2.2 CPBA/ZnO 的葡萄糖响应性考察

ARS 含有邻二醇结构,会与 CPBA/ZnO 结合,ARS 本身没有荧光,而形成的 ARS/CPBA/ZnO 具有很强的荧光^[17]。将 ARS/CPBA/ZnO 分别分散于不同葡萄糖浓度的水溶液中,葡萄糖与 ARS 发生竞争导致 ARS 脱落,使得荧光强度降低,结果如图

7 所示。图 7 表明,随着葡萄糖浓度的升高,ARS/CPBA/ZnO 体系的荧光强度明显降低,在有葡萄糖存在的条件下,葡萄糖可以与 ARS 发生竞争导致其脱落,从而降低了体系的荧光强度。因此该体系具备良好的葡萄糖响应能力,可以作为葡萄糖响应性的药物递送材料。

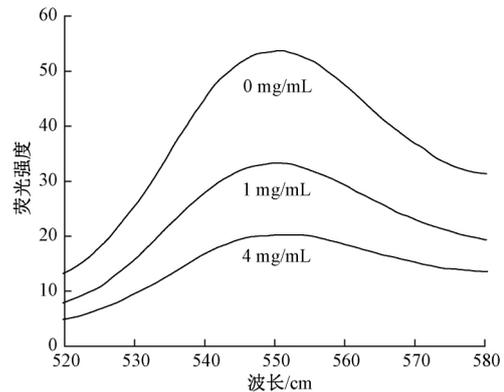


图 7 ARS/CPBA/ZnO 在不同葡萄糖浓度下的荧光发射光谱

2.3 载药 SA/CPBA/ZnO 的药物缓释

二甲双胍水溶液的标准曲线如图 8 所示,图中的拟合直线为 $y = 0.0788x - 0.0018$,式中 x 为浓度,单位为 $\mu\text{g}/\text{mL}$; y 为吸光度, $R^2 = 0.9996$ 。在 $1.0 \sim 6.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性良好,可以用于二甲双胍含量的测定。

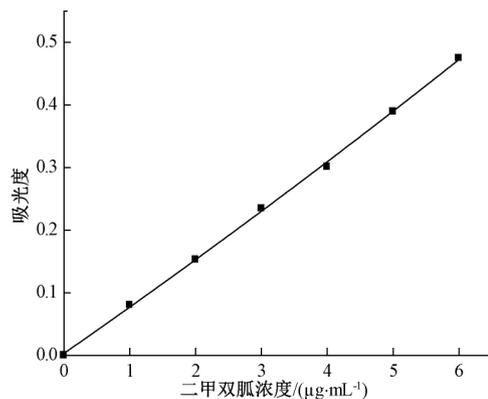


图 8 二甲双胍水溶液标准曲线

载药后的上清液稀释 200 倍后,在 233 nm 处吸光度为 0.367 (图 9)。而通过标准曲线(图 8)可知载药前上清液稀释 200 倍后的吸光度为 0.3922 ,部分药物成功负载。进一步通过式(1)计算得到,药物的负载量为 $16.1 \text{ mg}/\text{g}$ 。

载药后的 SA/CPBA/ZnO 在不同葡萄糖浓度下药物累计释放率如图 10 所示。图 10 表明,不含葡萄糖时,12 h 内药物累计释放率为 14.2% ,其原因可能是由于渗透作用导致的药物释放;葡萄糖浓度为 $1 \text{ mg}/\text{mL}$ 时,12 h 内药物的释放量达到 45.4% ,由于葡萄糖会与 SA 竞争 CPBA 的结合位

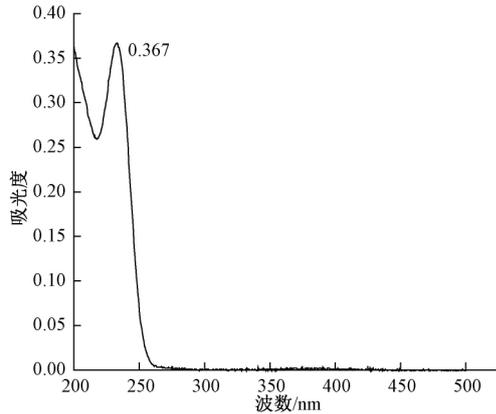


图9 200倍稀释后的上清液紫外分光光度计测试

点且葡萄糖的优先级更高导致 SA 与 CPBA 的磷酸酯键断开,导致 CPBA/ZnO 本身的介孔结构得以暴露,通过物理吸附的药物释放出;葡萄糖浓度到达 4 mg/mL 时,更多药物得以释放,12 h 内药物累计释放率达到 71.8%,说明 SA/CPBA/ZnO 载药体系在一定的葡萄糖浓度范围内具有良好的葡萄糖响应性,且药物累计释放率与葡萄糖浓度正相关。

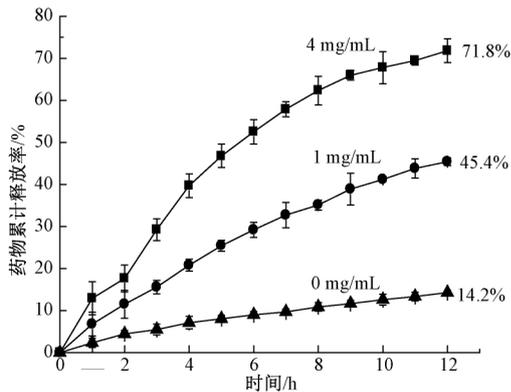


图10 不同葡萄糖浓度下12 h内药物累计释放率曲线

2.4 SA/CPBA/ZnO 的细胞毒性评价

采用 CCK-8 法测定每孔在 450 nm 处的 OD 值,得到 $OD_{450\text{ nm}}$ (实验组)和 $OD_{450\text{ nm}}$ (对照组),代入式(2)计算细胞存活率,结果图 11 所示。图 11 表明,当 SA/CPBA/ZnO 的浓度保持在 20 $\mu\text{g/mL}$ 以内,没有细胞毒性,在 SA/CPBA/ZnO 的浓度在 40 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞存活率保持在 80% 以上,浓度到达 60 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞存活率不足 60%,将 SA/CPBA/ZnO 控制在可添加的范围内可以保证良好的生物相容性。细胞毒性的产生主要是由于 ZnO 与细胞膜或者细胞内的线粒体相互作用,导致 ROS 的产生,即氧化应激^[18]。本文中 SA/CPBA/ZnO 尺寸大于 100 nm,大大降低了进入细胞的可能性,因此相较于前人报道^[19],SA/CPBA/ZnO 的生物相容性出现一定程度的提高。

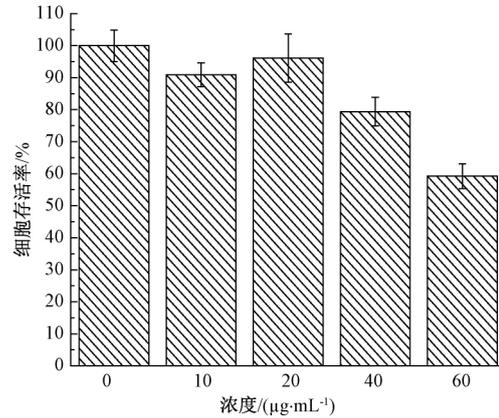


图11 不同浓度的 SA/CPBA/ZnO 对 HeLa 细胞的毒性研究

3 结论

本文采用溶剂热法,制备得到了氨基化的 ZnO,通过酰胺化反应结合上 CPBA,利用含有邻二醇结构的 SA 包封 CPBA/ZnO 得到 SA/CPBA/ZnO,并对其进行降糖药物二甲双胍的负载,考察其在葡萄糖环境下释放药物的能力,同时对 SA/CPBA/ZnO 的细胞毒性也进行了初步研究,主要结论如下:

a)通过溶剂热法以及酰胺化反应制备得到尺寸均一、分散性良好且具有葡萄糖响应性的 SA/CPBA/ZnO 纳米颗粒。

b)SA/CPBA/ZnO 具有良好的药物负载能力,对二甲双胍的负载可以达到 16.1 mg/g。在高葡萄糖浓度下(4 mg/mL)药物在 12 h 内累计释放率达到 71.8%,远高于 1 mg/mL 葡萄糖浓度下药物的累计释放率,这说明葡萄糖竞争 SA 与 CPBA 之间的结合位点,导致 SA 脱落,暴露出 ZnO 本身的介孔结构,导致药物释放。

c)SA/CPBA/ZnO 具有较低的细胞毒性,当浓度为 40 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞存活率依然可以保持在 80% 以上,说明其具备作为良好生物相容性的药物递送系统的潜力。

参考文献:

- [1] 郑亚珍. 介孔纳米二氧化硅葡萄糖响应型胰岛素递送系统的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018:17-23.
- [2] Cho N H, Shaw J E, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2018, 138(2):271-281.
- [3] Cai B, Luo Y, Guo Q, et al. A glucose-sensitive block

- glycopolymers hydrogel based on dynamic boronic ester bonds for insulin delivery [J]. *Carbohydrate Research*, 2017, 445(4):32-39.
- [4] Yang H, Sun X, Liu G, et al. Glucose-responsive complex micelles for self-regulated release of insulin under physiological conditions [J]. *Soft Matter*, 2013, 9(35): 8589-8599.
- [5] Kota S, Modi K, Satya Krishna S. Glycemic variability: Clinical implications [J]. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2013, 17(4): 611-619.
- [6] Wu Q, Wang L, Yu H, et al. Organization of glucose-responsive systems and their properties [J]. *Chemical Reviews*, 2011, 111(12): 7855-7875.
- [7] Di J, Yu J, Ye Y, et al. Engineering synthetic insulin-secreting cells using hyaluronic acid microgels integrated with glucose-responsive nanoparticles [J]. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 2015, 8(3): 445-454.
- [8] Zhao L, Xiao C, Ding J, et al. Competitive binding-accelerated insulin release from a polypeptide nanogel for potential therapy of diabetes [J]. *Polymer Chemistry*, 2015, 6(20): 3807-3815.
- [9] Li C, Huang F, Liu Y, et al. Nitrilotriacetic acid-functionalized glucose-responsive complex micelles for the efficient encapsulation and self-regulated release of insulin [J]. *Langmuir*, 2018, 34(40): 12116-12125.
- [10] Hou L, Zheng Y, Wang Y, et al. Self-regulated carboxyphenylboronic acid-modified mesoporous silica nanoparticles with "touch switch" releasing property for insulin delivery [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(26): 21927-21938.
- [11] Wu Q, Wang L, Yu H, et al. Organization of glucose-responsive systems and their properties [J]. *Chemical Reviews*, 2011, 111(12): 7855-7875.
- [12] Fyles T M, Bosch L I, James T D. Binary and ternary phenylboronic acid complexes with saccharides and Lewis bases [J]. *Tetrahedron*, 2004, 60(49): 11175-11190.
- [13] Ma R, Shi L. Phenylboronic acid-based glucose-responsive polymeric nanoparticles: synthesis and applications in drug delivery [J]. *Polymer Chemistry*, 2014, 5(5):1503-1518.
- [14] Alipour N, Namazi H. Chelating ZnO-dopamine on the surface of graphene oxide and its application as pH-responsive and antibacterial nanohybrid delivery agent for doxorubicin [J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 108(3):1-10.
- [15] Huang W M, Jiang P, Wei C Y, et al. Low-temperature one-step synthesis of covalently chelated ZnO/dopamine hybrid nanoparticles and their optical properties [J]. *Journal of Materials Research*, 2008, 23(7): 1946-1952.
- [16] 文丽荣, 李明, 赵桂龙. 红外光谱中取代基对苯环骨架振动吸收峰的影响规律 [J]. *光谱实验室*, 2004, 21(2): 244-247.
- [17] Kumar B, Salikolimi K, Eswaramoorthy M. Glucose and pH-responsive charge-reversal surfaces [J]. *Langmuir*, 2014, 30(4): 4540-4544.
- [18] 孔子浩, 王振宇, 陈妮, 等. 纳米氧化锌在食品中的应用及毒理学研究进展 [J]. *保鲜与加工*, 2019, 111(2): 182-186.
- [19] 隋科科. 食品添加剂中的金属纳米氧化物与维生素 C 对于胃肠道系统和神经系统的复合毒性效应研究 [D]. 上海: 上海大学, 2015:35-42.

(责任编辑: 廖乾生)