



# 季铵化卟啉光敏剂的合成与细胞毒性评价

刘书杰<sup>1</sup>, 曹 洁<sup>1</sup>, 钱 涛<sup>2</sup>, 肖 刚<sup>3</sup>, 陈维国<sup>1</sup>, 崔志华<sup>1,4</sup>

(1. 浙江理工大学, a. 生态染整技术教育部工程研究中心; b. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018;  
2. 杭州吉华高分子材料股份有限公司, 杭州 311228; 3. 金华双宏化工有限公司, 浙江金华 321000;  
4. 浙江理工大学上虞工业技术研究院有限公司, 浙江绍兴 312300)

**摘 要:** 间四苯基卟啉(TPP)溶解性较差, 导致其在光动力治疗中生物利用率低, 且季铵化后对细胞的生长存在一定毒性, 为解决该问题, 合成了以六碳脂肪链为桥基、以共价键连接的新型季铵化卟啉光敏剂(QTPP), 通过质谱、核磁共振氢谱对其结构进行表征, 紫外-可见吸收光谱对其进行理化性质测试, 并采用动态光散射仪、透射电子显微镜、Zeta 电位仪对两亲性脂质体(Dspe-PEG<sub>2000</sub>)包覆 QTPP 形成的脂质体纳米粒子的(QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub>)分散液进行测量与分析, 进一步测试了无光照条件下 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对人正常乳腺 MCF-10A 细胞的毒性以及光照条件下 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对小鼠乳腺癌细胞(4T1)的毒性。结果表明: QTPP 在甲醇中的溶解性较好, QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 分散液具有良好的稳定性, 平均粒径为 98 nm, 表面形貌为规则球形, Zeta 电位为-17.25 mV。无光照条件下 QTPP 对人正常乳腺 MCF-10A 细胞的毒性较大, 而 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对正常乳腺 MCF-10A 细胞的毒性较低, 但在光照条件下 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对小鼠 4T1 细胞表现出较强杀伤效果。上述结果表明, TPP 经过季铵化后溶解性得到有效提高, 用两亲性脂质体 Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对 QTPP 进行包覆可以有效降低 QTPP 对健康细胞的毒性, 表明 QTPP 在光动力治疗方面具有应用前景。

**关键词:** 光动力治疗; 光敏剂; 四苯基卟啉; 季铵化; 纳米级颗粒; 单线态氧

**中图分类号:** R318.08      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1673-3851 (2022) 07-0556-09

## Synthesis of quaternary ammonium porphyrin photosensitizer and the evaluation of its cytotoxicity

LIU Shujie<sup>1</sup>, CAO Jie<sup>1</sup>, QIAN Tao<sup>2</sup>, XIAO Gang<sup>3</sup>, CHEN Weiguo<sup>1</sup>, CUI Zhihua<sup>1,4</sup>

(1a. Engineering Research Center for Eco-Dyeing & Finishing of Textiles, Ministry of Education;  
1b. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Hangzhou Jihua Polymer Material Co., Ltd., Hangzhou 311228, China, 3. Jinhua Shuanghong Chemical Co., Ltd., Jinhua 321000, China; 4. Shangyu Industrial Technology Research Institute Co., Ltd., Zhejiang Sci-Tech University, Shaoxing 312300, China)

**Abstract:** In order to solve the problems of low bioavailability of tetraphenylporphyrin (TPP) in photodynamic therapy due to its poor solubility and its toxicity to cell growth after quaternization, a new quaternized porphyrin photosensitizer (QTPP) with six carbon fat chain as bridge connected by covalent bond was synthesized in this paper. Its structure was characterized by mass spectrometry and nuclear

收稿日期: 2021-12-08      网络出版日期: 2022-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(21808210); 浙江省重点研发计划项目(2021C01058); 浙江省自然科学基金项目(LY21B060010); 金华市科技计划项目(2019-1-034)

作者简介: 刘书杰(1993—), 男, 安徽亳州人, 硕士研究生, 主要从事纺织化学与染整方面的研究。

通信作者: 崔志华, E-mail: zhhcui@zstu.edu.cn

magnetic resonance, and its physical and chemical properties were tested by UV-VIS absorption spectrum. The amphipathic dispersion liquid (QTPP @ Ds-pe-PEG2000) of liposome nanoparticles formed by amphiphilic liposomes (Ds-pe-PEG2000) coated with QTPP were characterized by dynamic light dispersive colorimeter, transmission electron microscope and zeta potentiometer was measured and analyzed. The toxicity of QTPP and QTPP @ Ds-pe-PEG2000 to human normal breast MCF-10A cells under dark conditions and the toxicity of QTPP @ Ds-pe-PEG2000 to mouse 4T1 cells under light conditions were further tested. The results showed that the solubility of QTPP in methanol was good and QTPP@Ds-pe-PEG2000 dispersion liquid exhibited good stability. The average particle size was 98 nm, the surface morphology was regular spherical, and the zeta potential was  $-17.25$  mV. QTPP had stronger toxicity to human normal breast MCF-10A cells under dark conditions, while QTPP@Ds-pe-PEG2000 had low toxicity to normal breast MCF-10A cells, but QTPP@Ds-pe-PEG2000 showed a strong killing effect on mouse 4T1 cells under light conditions. The above results show that the solubility of TPP has been effectively improved after quaternization. Coating QTPP with amphiphilic liposome Ds-pe-PEG2000 can effectively reduce the toxicity of QTPP to healthy cells, indicating that QTPP has potential application prospects in photodynamic therapy.

**Key words:** photodynamic therapy; photosensitizer; tetraphenylporphyrin; quaternization; nanometer particles; singlet oxygen

## 0 引言

光动力治疗是一种治疗肿瘤疾病的非侵入性新技术<sup>[1-4]</sup>,因其具有非侵入性、局部靶向、与其他治疗方法兼容性强等优点而成为目前肿瘤治疗研究的热点<sup>[5-7]</sup>。光动力治疗依赖 $^1\text{O}_2$ 的产生。在特定的激光照射下,光动力疗法中的光敏剂通常可以吸收激光的能量而跃迁至激发态;处于激发态的光敏剂将能量传递给肿瘤组织周围的基态氧( $\text{O}_2$ ),进而诱导产生强氧化性 $^1\text{O}_2$ ;  $^1\text{O}_2$ 与各种生物大分子(如蛋白质、核酸等)发生氧化反应,促使肿瘤区域癌细胞凋亡和坏死,从而抑制肿瘤生长<sup>[8]</sup>。肿瘤细胞中线粒体的跨膜电位为负值,带正电荷的亲脂性光敏剂在穿过癌细胞的脂质双分子层后,受静电吸引作用,易于与线粒体膜结合<sup>[9]</sup>,破坏线粒体膜电位导致细胞凋亡,提高光动力治疗效果。

季铵盐离子通过化学键连接至 TPP 分子,可以提高光敏剂对肿瘤细胞的杀伤效果<sup>[10]</sup>。如 Rui 等<sup>[11]</sup>合成了一种以酯键为桥基的季铵化卟啉光敏剂(TPP-QAS),并用柱状芳烃(WP5)对其进行包覆,从而使季铵盐修饰的卟啉衍生物光敏剂在无光照条件下对细胞的毒性在血液循环中保持沉默状态,提高光敏剂随血液循环的半衰期,增加光敏剂在肿瘤组织附近的积累,有效提高光动力治疗效果。Xu 等<sup>[12]</sup>将以四碳链为桥基共价键连接的季铵化卟啉光敏剂用于光动力治疗,通过静电相互作用力将

其负载至叶酸修饰的氧化石墨烯(GO)中,使其能够与癌细胞表面的叶酸受体进行特异性结合,有效提高了光动力治疗效果。然而,上述两种季铵化卟啉光敏剂对细胞暗毒性较大,柱状芳烃与氧化石墨烯为疏水性基团,致使两者在光动力治疗方面受到了一定的限制。

本文为解决 TPP 溶解性较差及季铵盐修饰的卟啉光敏剂对细胞的生长存在一定毒性的问题,首先,合成了抗肿瘤效果的新型光敏剂 QTPP,用两亲性脂质体对 QTPP 包覆改性进一步提高其水溶性及生物利用率,降低其细胞毒性;然后,对比 QTPP 与 TPP 的理化性质,以及 QTPP 在激光照射条件下单线态氧( $^1\text{O}_2$ )的产生和其自身光稳定性,分析脂质体对 QTPP 进行包覆过后的粒子粒径、Zeta 电位、形貌影响;最后,进一步测定 QTPP 和 QTPP@Ds-pe-PEG<sub>2000</sub>对人正常乳腺 MCF-10 A 细胞的毒性和光照条件下 QTPP@Ds-pe-PEG<sub>2000</sub>对小鼠 4T1 细胞的光毒性杀伤效果。本文结果可为 QTPP 在光动力治疗应用研究提供理论依据。

## 1 实验部分

### 1.1 实验材料及仪器

实验材料:N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、乙酸乙酯、石油醚(PE)、二氯甲烷(DCM)、三氯甲烷、三甲胺溶液、无水乙醇、四氢呋喃(THF)、无水硫酸钠、无水碳酸钾、甲醇等均为分析纯,购于杭州高晶精细

化工有限公司;苯甲醛、对羟基苯甲醛、1,6-二溴己烷、正己烷、1,3-二苯基异苯并呋喃(DPBF)、四苯基卟啉(TPP)、丙酸等均为分析纯,购于上海麦克林生化科技有限公司;吡咯(分析纯)购于天津希恩思生化科技有限公司。

实验仪器:AVANCE AV400 MHz 型核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司);LCQ-Fleet 型质谱仪(美国赛默飞公司);UV-2600 型紫外分光光度仪(日本岛津公司);F-7000 型荧光光谱仪(日本日立公司);JEM-2100 型透射电子显微镜(日本电子株式会社);Zetasizer Nano ZS 型动态光散射仪(英国 Malvern 公司)。

## 1.2 季铵化卟啉光敏剂的合成

### 1.2.1 光敏剂 QTPP 的合成

a)中间体 1 的合成与表征。将苯甲醛(1.83 mL)和对羟基苯甲醛(0.73 g)溶于 20.00 mL 丙酸溶液,搅拌升温至 130 °C。再将新蒸馏的吡咯(1.66 mL)溶于 0.50 mL 丙酸溶液中,通过恒压漏斗将其缓慢滴加至上述混合液中,持续滴加 15 min。混合物在 130 °C 下加热回流 5 h,反应完成后,将反应混合物冷却至室温。在反应混合物中加入 30.00 mL 甲醇,密封放置在 4 °C 冰箱中冷藏一夜,减压过滤得深紫色固体(2.57 g)。粗产物通过硅胶柱层析分离( $V_{PE}:V_{EA}=3:1$ )获得深紫色中间体 1 为 0.67 g,产率 25.3%。 $^1H$  NMR(400 MHz, DMSO)  $\delta$  9.96 (s, 1H), 8.81 (s, 9H), 8.28 (d,  $J=8.4$  Hz, 9H), 7.80 (d,  $J=8.4$  Hz, 10H), -2.74 (s, 2H)。ESI-MS ( $m/z$ , 100%): 629.55  $[M-H]^-$ 。

b)中间体 2 的合成与表征。将步骤(a)中得到的化合物 1(0.50 g)溶解于 20.00 mL 无水 DMF 中。向混合液中加入 1,6-二溴己烷(1.23 mL)和无水  $K_2CO_3$  粉末(1.00 g),室温下搅拌 24 h。反应结束后,向反应液中加入 20.00 mL  $CH_2Cl_2$ ,用超纯水(600.00 mL)萃取,去除 DMF 和无水  $K_2CO_3$ 。所得有机相用  $Na_2SO_4$  干燥,过滤,旋蒸除去溶剂。粗产物通过硅胶柱层析分离( $V_{PE}:V_{DCM}=4:1$ )得深紫色固体(0.55 g),即中间体 2,产率为 86.5%。 $^1H$  NMR(400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.92 (s, 8H), 8.26 (d,  $J=8.0$  Hz, 6H), 8.15 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H), 7.80 (d,  $J=7.2$  Hz, 9H), 7.31 (d,  $J=7.6$  Hz, 2H), 3.56 (t,  $J^1=J^2=6.8$  Hz, 2H), 3.47 (t,  $J^1=J^2=6.8$  Hz, 2H), 2.38-2.21 (m, 2H), 2.07-2.01 (m, 6H), -2.74 (s, 2H)。ESI-MS ( $m/z$ , 100%): 793.54  $[M+H]^+$ 。

c)QTPP 的合成与表征。将步骤(b)中所得化合物 2(0.02 g)溶解于 20.00 mL(15.00 mL THF+5.00 mL  $CHCl_3$ )溶液中,向反应液中加入 30%的三甲胺水溶液(3.00 mL),加热回流反应 19 h。反应完成后,反应液冷却至室温,旋蒸除去溶剂。向反应物中加入 1.00 mL 甲醇和 10.00 mL 己烷,静置 18 h,有紫色沉淀析出。离心、过滤,称重得到深紫色固体(14 mg),即 QTPP,产率为 73.68%。 $^1H$  NMR(400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8.88 (s, 8H), 8.26 (d,  $J=7.6$  Hz, 6H), 8.16 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.80 (d,  $J=8.4$  Hz, 9H), 7.28 (d,  $J=7.6$  Hz, 2H), 4.28 (t,  $J^1=J^2=6.0$  Hz, 2H), 3.73 (t,  $J^1=J^2=7.2$  Hz, 2H), 2.72-2.52 (m, 8H), 2.04-1.59 (m, 8H), -2.74 (s, 2H)。ESI-MS( $m/z$ , 100%): 772.86  $[M-Br]^+$ 。

### 1.2.2 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的制备

第一步取 QTPP(1 mg),加入甲醇(0.30 mL)和三氯甲烷(0.70 mL),超声 40 min;第二步取脂质体(1 mg)溶解于三氯甲烷(1.00 mL)中,超声处理 10 min;第三步向第二步脂质体溶液中加入三氯甲烷(0.79 mL)及第一步超声后的 QTPP 溶液(0.21 mL);第四步将所得混合液超声 1.5 h,旋蒸除去液体,并在 30 °C 烘箱中烘 12 h 除去残留液体,向烘干后混合物中加入 4.00 mL PBS 缓冲液,超声 1.5 h;第五步在 -80 °C 条件下冷冻 1 h,再次超声 30 min,重复冷冻和超声步骤 3 次;第六步在 3500 透析袋中透析 24 h,取出透析液再用 450 nm 和 220 nm 滤头分别过滤 3 次,得到 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 分散液。

## 1.3 光敏剂结构表征测试方法

### 1.3.1 质谱法

用甲醇作为流动相,采用美国 LCQ Fleet 质谱仪,离子源:ESI;离子化模式:正、负离子,质荷比  $m/z$  在 150~2000 内分别测试 QTPP 合成过程中的一缩产物、二缩产物和 QTPP。

制样方法:取待测样品 2 mg 于离心管中,加入甲醇 1 mL,超声助溶,220 nm 滤筛过滤制得滤液样品,待测试。

### 1.3.2 紫外-可见光吸收光谱法

通过紫外-可见分光光度计测试配制成一定浓度的样品溶液,得到吸收光谱曲线,记录最大吸收波长处的吸光度。光敏剂的摩尔消光系数可根据朗伯比尔定律计算,公式为:

$$\epsilon = \frac{A}{cL},$$

其中： $A$  为吸光度； $c$  为光敏剂质量浓度， $\mu\text{g/mL}$ ； $L$  是比色皿的厚度， $\text{cm}$ 。

制样方法：取定量光敏剂溶解于 DMF 或者水中，定容，摇匀，待测。

1.3.3 光稳定性测试法

以 DMF 为溶剂，配置一定浓度的光敏剂，用激光( $650\text{ nm}$ ,  $33\text{ mW/cm}^2$ )照射光敏剂溶液，照射一定时间后取样用紫外—可见分光光度计进行测试，对比照射前后的谱图变化。

1.3.4 单线态氧测试方法

选用 DPBF 作为单线态氧捕捉剂检测单线态氧的产生，将 DPBF 溶于 DMF 中配制成  $80\text{ }\mu\text{g/mL}$  的 DPBF 溶液，QTPP 溶于 DMF 中配制成  $60\text{ }\mu\text{g/mL}$  的 QTPP 溶液，采用激光( $650\text{ nm}$ ,  $33\text{ mW/cm}^2$ )分别对 DPBF 溶液与加入  $4\text{ }\mu\text{L}$  QTPP 溶液的 DPBF 进行  $30$ 、 $60$ 、 $90$ 、 $120\text{ s}$  和  $150\text{ s}$  的照射，采用紫外—可见分光光度计对照射过后的溶液测试其吸光度，测试方法参考文献[13]。

1.3.5 动态光散射仪法

将 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 溶于去离子水中，配成  $10\text{ }\mu\text{g/mL}$  的溶液，取  $2.50\text{ mL}$  溶液加至比色皿，通过动态光散射仪对其粒径测试。

1.3.6 纳米粒子 Zeta 电位表征测试法

将 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 分别溶于去离

子水中，配成  $10\text{ }\mu\text{g/mL}$  的溶液，加至测电位的比色皿容器中，通过 Zeta 电位仪对其进行 Zeta 电位测试。

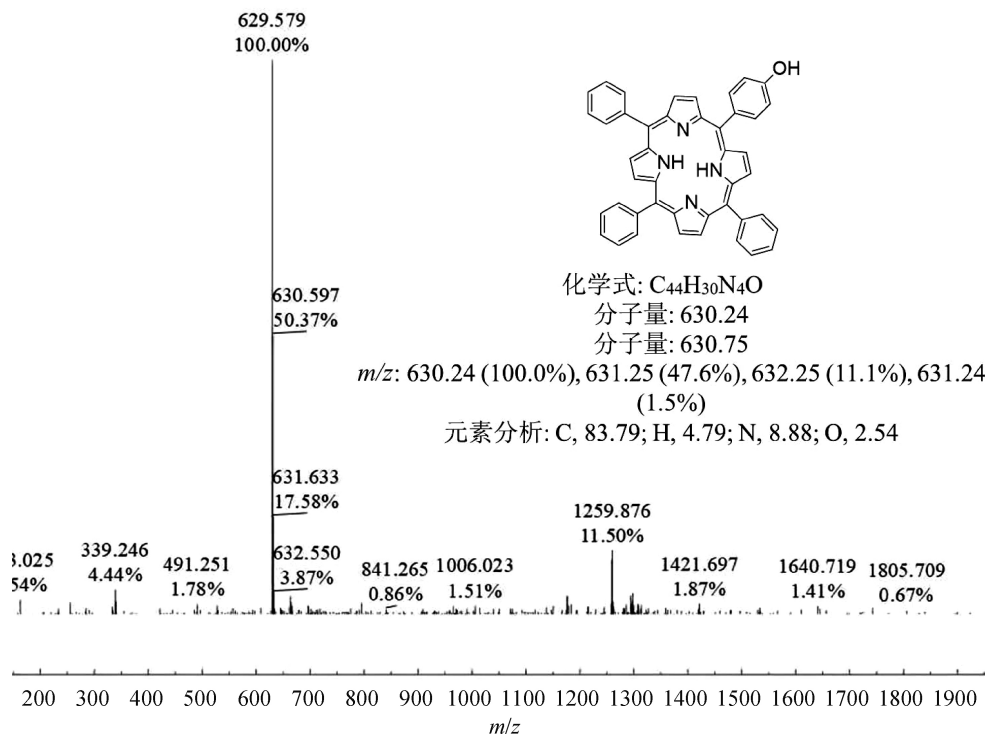
1.3.7 透射电子显微镜法

将冻干后 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 溶解于去离子水中配成  $10\text{ }\mu\text{g/mL}$  的溶液，用  $0.5\text{ mm}$  毛细管吸取溶液滴于铜网上，待其干燥后，在  $120\text{ kV}$  电压透射电子显微镜下扫描观察粒子形貌。

2 结果与讨论

2.1 中间体 1、2 和 QTPP 质谱分析

中间体 1、2 和光敏剂 QTPP 进行质谱分析测试，结果如图 1 所示。图 1(a)是中间体 1 在质谱 ESI 负模式下测试谱图，由图 1(a)可知，在质谱 ESI 负离子模式下中间体 1 出现较强的  $[\text{M-H}]^-$  分子离子峰  $m/z\ 629.579$ ，与中间体 1 的理论分子量  $630.240$  相吻合。图 1(b)是中间体 2 在质谱 ESI 正离子模式下测试谱图，由图 1(b)可知，在质谱 ESI 正模式下，中间体 2 有较强的  $[\text{M+H}]^+$  分子离子峰  $m/z\ 793.594$ ，与中间体 2 的理论分子量  $792.250$  相吻合。图 1(c)是 QTPP 在质谱 ESI 正离子模式下测试谱图，由图 1(c)可知，在质谱 ESI 正模式下，QTPP 有较强的  $[\text{M-Br}]^+$  分子离子峰  $m/z\ 772.846$ ，与 QTPP 的理论分子量  $772.400$  相吻合。



(a) 中间体1



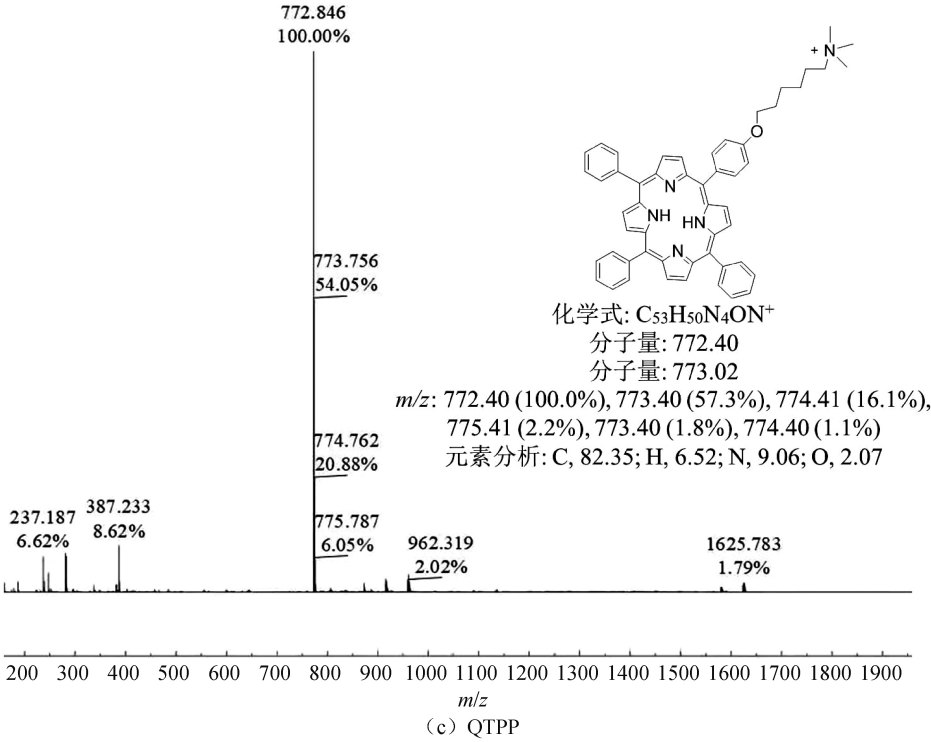
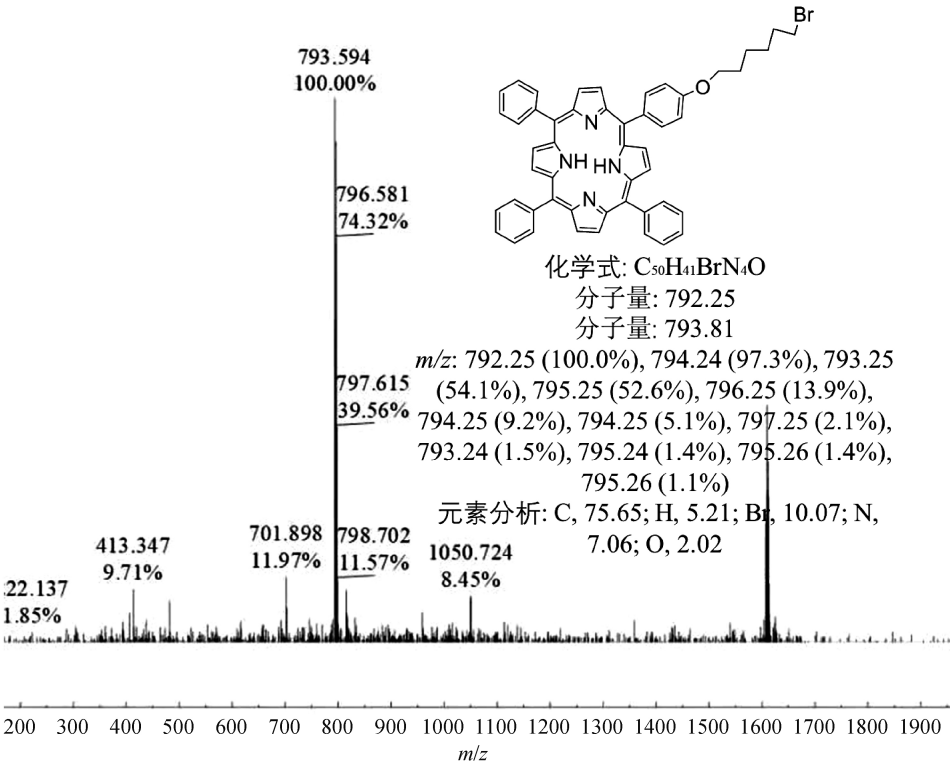


图1 中间体与 QTPP 质谱图

2.2 TPP、QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 理化性质

2.2.1 TPP、QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 紫外-可见光吸收光谱分析

通过紫外-可见光吸收光谱仪对 QTPP 与

TPP 分别溶解于 DMF 溶液中、QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 溶解于水中配成的 30 μg/mL 溶液进行测试,结果如图 2 所示,TPP、QTPP 在 650 nm 处出现吸收信号,符合光动力治疗 600~900 nm 激光治疗窗口;TPP 以六碳脂肪链为桥基季铵化后,由于强

吸电子基团的引入使光敏剂 QTPP 较 TPP 出现了微弱的红移现象,脂质体包覆过后由于 QTPP 被包覆于纳米球内增加了  $\pi-\pi$  效应,使包覆过后的 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 较 QTPP 发生较为明显的增色位移现象。

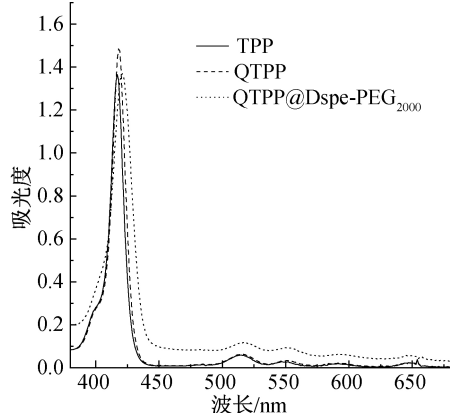
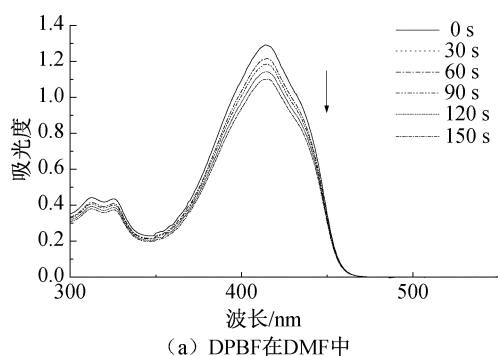


图 2 TPP、QTPP 与 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 紫外-可见光吸收光谱图

## 2.2.2 QTPP 在甲醇中随浓度变化对溶解度的影响分析

采用紫外-可见分光光度计对溶解于甲醇中配成梯度浓度的 QTPP 溶液进行测试,结果如图 3 所示。图 3 表明:QTPP 光敏剂在波长为 415 nm 处吸收峰值的相关系数  $R^2$  为 0.9994,符合朗伯-比尔定律,而 TPP 在甲醇中难以溶解;TPP 经过季铵化后其在甲醇中溶解性得到有效的提高,为后续的脂质体包覆性试验提供了良性溶剂的参考依据。



(a) DPBF在DMF中

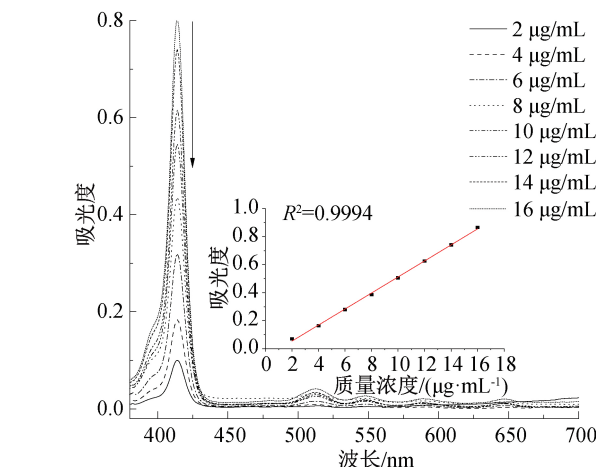
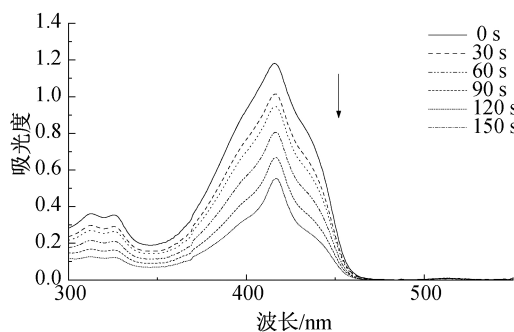


图 3 不同浓度 QTPP 溶液的紫外-可见吸收光谱图

注:内插图为 QTPP 在波长 415 nm 处的吸收峰值与浓度变化之间的相关性。

## 2.2.3 QTPP 单线态氧性能的测试分析

采用紫外-可见分光光度计对激光(650 nm, 33 mW/cm<sup>2</sup>)照射过后的 DPBF 溶液与加入 QTPP 溶液的 DPBF 溶液测试其吸光度,结果如图 4 所示。图 4(a)表明:仅有 DPBF 存在时,随激光照射时间的延长,DPBF 在 415 nm 处的吸收峰值无较大幅度变化,图 4(b)表明:当向 DPBF 溶液中加入 QTPP 溶液后,随激光照射时间延长 DPBF 在 415 nm 处的吸收峰值显著下降,结果表明,采用激光(650 nm, 33 mW/cm<sup>2</sup>)照射 QTPP 能有效产生<sup>1</sup>O<sub>2</sub>。



(b) DPBF与QTPP在DMF中

图 4 不同激光照射时间下含/不含光敏剂 QTPP 的 DPBF 溶液的紫外-可见吸收光谱图

## 2.2.4 QTPP 光稳定性分析

对溶于甲醇中配成 100 µg/mL 的 QTPP 溶液进行光稳定性测试,结果如图 5 所示。由图 5(a)可知,在激光(650 nm, 33 mW/cm<sup>2</sup>)照射条件下,随着照射时间增加,在 81 min 内, QTPP 的紫外-可见吸收光谱吸收峰值几乎无变化;图 5(b)为光照 81 min 后的 QTPP 产生<sup>1</sup>O<sub>2</sub>的紫外-可见吸收光

谱,由图 5(b)可知,光照并没有对 QTPP 产生<sup>1</sup>O<sub>2</sub>的能力产生影响,表明 QTPP 受激光照射(650 nm, 33 mW/cm<sup>2</sup>)的影响较小,光稳定性较好。

## 2.2.5 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的粒径表征

采用动态光散色仪对 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 水溶液进行粒径测试,结果如图 6 所示。QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 在水溶液中的平均流体动力学直径为

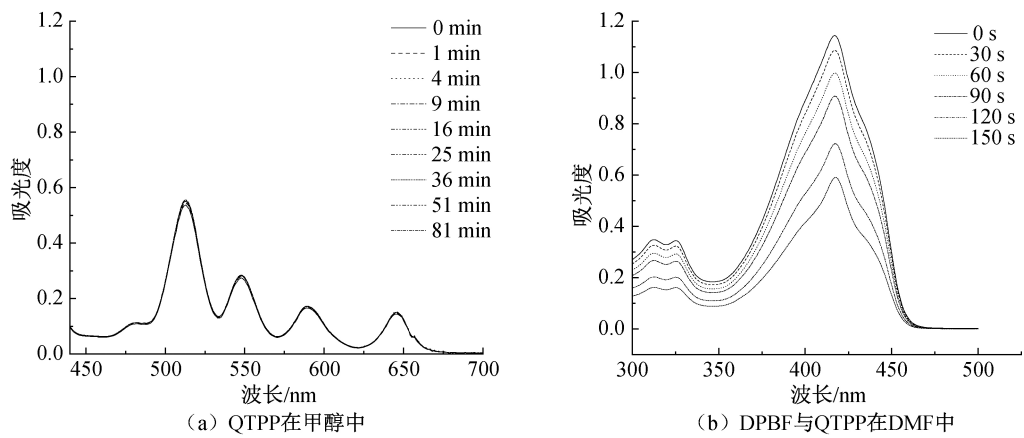


图5 含QTPP的甲醇溶液与含QTPP的DPBF溶液的紫外-可见吸收光谱图

98 nm, 粒子粒径随时间延长在 15 d 内并未发生明显变化, 结果表明该纳米粒子的水溶液在 15 d 内可以稳定地存在, 具有良好的稳定性, QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 粒子粒径完全符合光动力治疗所需颗粒的纳米尺寸范围要求。

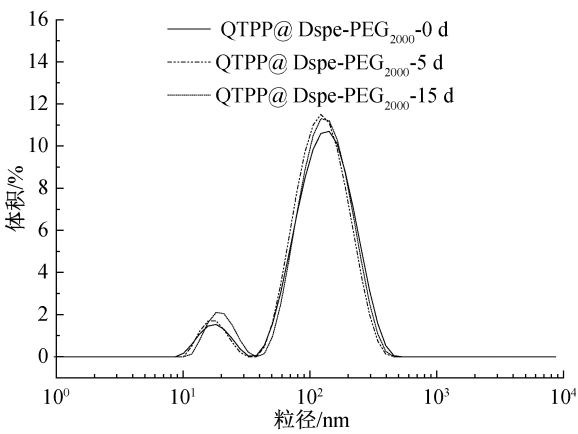


图6 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub>水溶液的粒径谱图

2.2.6 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的 Zeta 电位分析

将 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 各自溶于水, 分别对 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 溶液进行 Zeta 电位测试。测试结果显示, QTPP 在被脂质体包覆前 Zeta 电位为 +4.36 mV, 而经脂质体包覆后 Zeta 电位为 -17.25 mV。Zeta 电位结果表明, QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 表面电荷为负值, 可以有效避免带正电荷的 QTPP 随血液循环与血液中某些含负电荷的蛋白质结合<sup>[14]</sup>, 减小 QTPP 对健康细胞的毒性, 提高 QTPP 在血液中的循环时间, 使 QTPP 在肿瘤部位有效富集, 提高光动力治疗效果。

2.2.7 QTPP 与 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的 TEM 表征

QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的水溶液进行

TEM 测试。结果如图 7(a) 所示, QTPP 在水中形成不规则的聚集体, 且该聚集体不能长期稳定存在, 存放 8 h 后有沉淀产生。由图 7(b) 知, 当 QTPP 被脂质体包覆形成 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 后, 在水中形成规则的球形纳米粒子, 平均粒径为 98 nm, 粒径大小与动态光散射测试结果相符, 可以长期稳定存在于水溶液中, 且粒径符合光动力治疗纳米粒子粒径的大小范围, 为光动力治疗提供了理论依据。

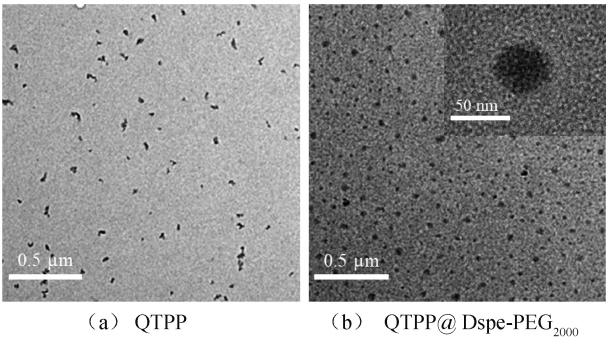


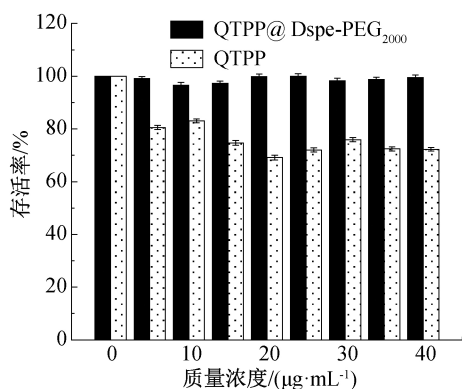
图7 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub>水溶液的 TEM 图

2.3 QTPP 与 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的细胞毒性研究

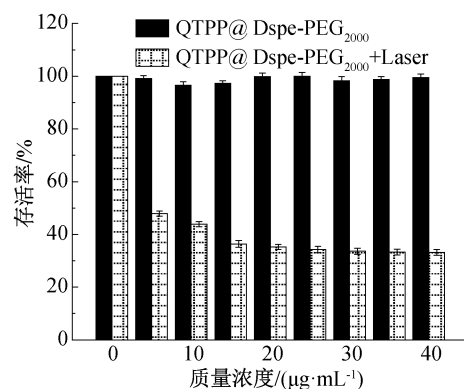
为评价 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的生物相容性, 采用噻唑蓝溴化四唑(MTT)法考察 QTPP 和 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 无光照条件下对人正常乳腺 MCF-10 A 细胞的毒性以及光照条件下 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对 4T1 细胞的光毒性进行测试。无光照条件下当 QTPP 作用于人正常乳腺 MCF-10 A 细胞时, 结果如图 8(a) 所示, 随 QTPP 浓度增大其对乳腺 MCF-10 A 细胞毒性逐渐增大, 当质量浓度大于 20 μg/mL 时, QTPP 分子间自我聚集速度加快致使其对健康细胞的毒性较低浓度变化不明显, 而 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对正常乳腺 MCF-10 A 细

细胞的毒性较低且随浓度的增加细胞存活率保持在 95% 以上, 用两亲性脂质体 Dspe-PEG<sub>2000</sub> 对 QTPP 进行包覆可以有效降低 QTPP 对健康细胞的暗毒性, 提高 QTPP 的生物相容性。当 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 作用于小鼠 4T1 细胞, 并且在 650 nm 激光

照射 10 min 后, 由图 8(b) 所示, 随 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 浓度增大 4T1 细胞存活率显著降低, 质量浓度达到 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  后 4T1 细胞存活率低于 35%, 表明 QTPP 对 4T1 细胞光毒性较高, 在光动力治疗方面具有潜在的应用前景。



(a) QTPP与QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub>作用于MCF-10A细胞



(b) QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub>作用于4T1细胞

图 8 MTT 法检测结果

### 3 结 论

本文为解决 TPP 溶解性较差及季铵盐修饰的卟啉光敏剂对细胞的生长存在一定毒性的问题, 设计合成了季铵化卟啉光敏剂 QTPP, 并将 QTPP 负载于脂质体中形成纳米粒子, 主要结论如下:

a) 合成了季铵化卟啉光敏剂 QTPP, 通过  $^1\text{H}$ -NMR 和 MS 证明了目标化合物的成功合成; QTPP 在甲醇有较好的溶解度, 在 650 nm 激光照射下能有效的产生  $^1\text{O}_2$ , 且自身光稳定性良好。

b) QTPP 能被脂质体包覆形成球形纳米粒子, 其在水溶液中可以长期稳定存在, 平均粒径为 98 nm, 粒子粒径符合光动力治疗所需颗粒的纳米尺寸范围要求; QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 的 Zeta 电位为负值, 增加了 QTPP 在血液中的循环时间, 有利于 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 在肿瘤部位有效富集。

c) 无光照条件下 QTPP@Dspe-PEG<sub>2000</sub> 作用于人正常乳腺 MCF-10 A 细胞的毒性低, 光照条件下对小鼠 4T1 细胞的光毒性杀伤效果高, 表明 QTPP 在光动力治疗方面有潜在的应用前景。

### 参考文献:

[1] Li X S, Lee D, Huang J D, et al. Phthalocyanine-assembled nanodots as photosensitizers for highly efficient type I photoreactions in photodynamic therapy [J]. *Angewandte Chemie*, 2018, 57(31): 9885-9890.  
[2] Zhang J, Teng M Y, Li D. Synthesis, characterization,

photophysical and DNA photocleavage properties of amphiphilic porphyrins[J]. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2014, 18(3): 221-230.

[3] Feng Q, Wang J, Song H, et al. Uptake and light-induced cytotoxicity of hyaluronic acid-grafted liposomes containing porphyrin in tumor cells[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2018, 47: 137-143.  
[4] Sun J, Li X, Du K, et al. A water soluble donor-acceptor-donor conjugated oligomer as a photosensitizer for mitochondria-targeted photodynamic therapy [J]. *Chemical Communications*, 2018, 54(66): 9194-9197.  
[5] Cui D, Huang J G, Zhen X, et al. A semiconducting polymer nano-prodrug for hypoxia-activated photodynamic cancer therapy[J]. *Angewandte Chemie*, 2019, 58(18): 5920-5924.  
[6] Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, et al. Photodynamic therapy-mechanisms, photosensitizers and combinations[J]. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2018, 106: 1098-1107.  
[7] Yuan Y, Zhang C J, Gao M, et al. Specific light-up bioprobe with aggregation-induced emission and activatable photoactivity for the targeted and image-guided photodynamic ablation of cancer cells [J]. *Angewandte Chemie*, 2015, 54(6): 1780-1786.  
[8] Guan Q, Zhou L L, Li Y N, et al. Diiodo-bodipy-encapsulated nanoscale metal-organic framework for pH-driven selective and mitochondria targeted photodynamic therapy[J]. *Inorganic Chemistry*, 2018, 57(16): 10137-10145.  
[9] Meng L B, Zhang W Y, Li D Q, et al. pH-responsive

- supramolecular vesicles assembled by water-soluble pillar[5]arene and a BODIPY photosensitizer for chemophotodynamic dual therapy [J]. Chemical Communications, 2015, 51(76): 14381-14384.
- [10] Zou Q L, Abbas M, Zhao L Y, et al. Biological photothermal nanodots based on self-assembly of peptide-porphyrin conjugates for antitumor therapy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2017, 139(5): 1921-1927.
- [11] Rui L L, Xue Y D, Wang Y, et al. A mitochondria-targeting supramolecular photosensitizer based on pillar [5] arene for photodynamic therapy [J]. Chemical Communications, 2017, 53(21): 3126-3129.
- [12] Xu J S, Zeng F, Wu H, et al. Dual-targeting nanosystem for enhancing photodynamic therapy efficiency[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015, 7(17): 9287-9296.
- [13] Zhang Y H, Zhao R B, Liu J, et al. Hierarchical nano-to-molecular disassembly of boron dipyrromethene nanoparticles for enhanced tumor penetration and activatable photodynamic therapy [J]. Biomaterials, 2021, 275: 120945.
- [14] Cho H, Cho Y Y, Shim M S, et al. Mitochondria-targeted drug delivery in cancers [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular Basis of Disease, 2020, 1866(8):165808.

(责任编辑:廖乾生)