



UCNP@mSiO₂ 纳米载体及其近红外光触发的药物可控释放研究

朱雪松, 童再再

(浙江理工大学材料与科学工程学院, 杭州 310018)

摘要: 为解决纳米载药体系在药物传递过程中不可控释放的问题, 设计了一种近红外光(NIR)触发的光控药物释放体系。首先通过合成上转换纳米粒子(UCNPs), 并在其表面包覆介孔二氧化硅(mSiO₂), 得到 UCNP@mSiO₂; 然后将偶氮苯(AZO)分子接枝到 UCNP@mSiO₂ 表面, 并在 mSiO₂ 的介孔上负载阿霉素(DOX); 最后加入环糊精(β -CD), 得到纳米载药体系 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@ β -CD。对纳米载药体系的形貌和结构进行表征, 并研究其在 NIR 照射下的药物可控释放行为。结果表明: 药物释放速率随 NIR 光照强度的增加而增加, 而在无 NIR 照射时药物基本不释放; 细胞毒性实验证实纳米载药体系在无 NIR 照射时具有良好的生物相容性, 而在 NIR 照射后显示出高的细胞毒性, 表明负载的 DOX 在 NIR 照射下被释放并实现了杀死癌细胞的目的。该纳米载药体系具有优良的光控药物释放行为, 在药物递送领域具有一定的应用价值。

关键词: 上转换纳米粒子; 近红外光; 偶氮苯; 介孔二氧化硅; 可控释放

中图分类号: TB381

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2022)11-0900-08

UCNP@mSiO₂ nanocarriers and their controlled drug release triggered by near infrared light

ZHU Xuesong, TONG Zaizai

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

Abstract: To solve the problem of uncontrolled drug release of nanocarrier system in drug delivery process, a controlled drug release system triggered by near infrared light (NIR) was designed in this work. First of all, UCNP@mSiO₂ was obtained by synthesizing the up-conversion nanoparticles UCNPs and coating them with mesoporous silica (mSiO₂). After that, the azobenzene (AZO) molecules were grafted to the surface of UCNP@mSiO₂ and then doxorubicin (DOX) was loaded into the mesopores of mSiO₂. Finally, β -cyclodextrin (β -CD) was added to obtain the nanocarrier system DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@ β -CD. The morphology and structure of the nanocarrier system were characterized and its controlled drug release behavior under NIR irradiation was examined in detail. The results showed that the drug release rate was accelerated with the increase of NIR irradiation intensity. In addition, basically no drug was released in the absence of NIR irradiation. The cytotoxicity test verified that the nanocarrier system showed good biocompatibility without NIR irradiation, but exhibited high cytotoxicity with NIR irradiation, indicating that the loaded DOX was released under NIR irradiation and killed cancer cells. The above results suggested that this nanocarrier system has excellent photocontrolled drug release triggered by

收稿日期: 2022-03-04 网络出版日期: 2022-06-02

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY20E030005)

作者简介: 朱雪松(1996—), 男, 安徽淮南人, 硕士研究生, 主要从事智能纳米材料方面的研究。

通信作者: 童再再, E-mail: tongzz@zstu.edu.cn

NIR and a potential application value in the field of drug delivery.

Key words: up-conversion nanoparticles; near-infrared light; azobenzene; mesoporous silicon dioxide; controlled release

0 引言

纳米载药体系广泛地应用于肥胖症、糖尿病和癌症等疾病的治疗^[1]。目前,癌症是对人体威胁最大的疾病之一,传统治疗癌症的手段有手术治疗、放射治疗、化学治疗及靶向治疗等^[2]。手术治疗一般用于癌症初期肿瘤的局部切除,但操作难度高,手术风险大;放射治疗是利用不同能量的射线对肿瘤细胞进行照射,从而实现对癌细胞生长的抑制,但同样只适用于局部治疗;相比较而言,化学治疗是临床医学中最常见的手段,抗癌药物一般通过口服或者注射的手段进入体内,但该方法不具有靶向性,且对正常的组织和细胞有杀伤性,副作用过大^[3-4]。因此,开发一种具有靶向性的智能药物运输体系对化学疗法显得尤为重要。智能纳米载体药物运输体系在生物相容性、靶向性及多药传递等方面都体现出独特的优势^[5]。目前纳米载体的种类繁多,其中介孔二氧化硅(mSiO₂)因具有较好的热和光稳定性、可调节的尺寸、较大的孔体积/比表面积以及易功能化等优点,被广泛应用于纳米载体药物运输体系^[6-8]。

纳米载药体系虽然已经开始应用于临床医学,但仍面临着众多挑战,如治疗效果差、副作用严重等^[9]。纳米载体通常无法将抗癌药物传递到合适的肿瘤位置以及抗癌药物过早或者过迟地释放,不仅治疗效率大大降低,且对正常细胞也有一定的危害^[10],因此研究精准可控释放抗癌药物的体系是目前的研究热点。光作为一种洁净、无接触且可远程调控的刺激手段,在药物可控释放领域内具有较好的应用前景。其中紫外(UV)光对人体组织伤害大且组织穿透能力弱^[11];相比较之下,近红外光(NIR)具有较强的组织穿透能力,且NIR光可达组织深处的肿瘤细胞,但NIR的能量低,并不能直接诱导一些光响应的反应,极大地限制了其在光反应中的应用^[12]。因此探索可利用NIR的优点并结合UV光响应的纳米载体体系,从而制备出具有NIR触发的药物可控释放体系显得尤为重要。镧系(Tm³⁺、Er³⁺和Ho³⁺)离子具有独特的阶梯状能级结构,由镧系离子合成的上转换纳米粒子(UCNPs)可将NIR转换为UV光和可见光,由此为光刺激的智能药物传递体系提供了可能性。目前已报道了许

多NIR刺激的智能药物传递系统,如Zhang等^[13]成功制备了NaYF₄:Er/Yb/Gd@SiO₂纳米复合材料,在NIR的刺激下通过可控释放单线态氧实现了光动力治疗;Song等^[14]设计了以NaYF₄:Tm,Yb为核,UV光可降解的聚合物为壳的纳米粒子,在NIR刺激下实现了光诱导聚合物的可控降解。尽管目前已有利用UCNPs的性质从而实现NIR刺激的药物释放方面的研究,但制备具有较高载药量和可控释放药物的智能药物运输体系仍然是一个很大的挑战^[15]。

在已有研究基础上,本文构建了一种NIR触发的智能纳米载药体系。即合成UCNP@mSiO₂并通过其表面改性引入偶氮苯(AZO),同时负载抗癌药物阿霉素(DOX)至mSiO₂介孔中,最后通过加入环糊精(β -CD)制备稳定的纳米载药体系。该纳米载药体系在980 nm NIR照射下可实现药物的可控释放;同时,药物的释放速度可通过改变NIR的强度来调控。本文设计的纳米载药体系在光控药物递送领域具有一定的潜在应用价值。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

实验材料:六水氯化钇(Ⅲ)(YCl₃·6H₂O, 99.99%)、六水氯化镱(Ⅲ)(YbCl₃·6H₂O, 99.99%)、六水氯化铥(Ⅲ)(TmCl₃·6H₂O, 99.99%)、十八烯(C₁₈H₃₆, 90.0%)、氢氧化钠(NaOH, 95%)、甲醇(CH₃OH, 99.5%)、氟化铵(NH₄F, 98%)、油酸(C₁₈H₃₄O₂, 99%)、正硅酸四乙酯(TEOS, 98%)、3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES, 99%)、环己烷(99%)、4-二甲基氨基吡啶(DMAP, 99%)、二甲基亚砜(DMSO, 99.8%)、无水乙醇(C₂H₅OH, 分析纯)、苯酚(99.5%)、 β -环糊精(β -CD, 98%)、苯氨甲酸(C₈H₈O₂, 99%)、正己烷(C₆H₁₄, 98%)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB, 98%)、阿霉素(DOX, 98%)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl, 97%)、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT, 97%)均购自上海麦克林生化科技有限公司,海拉(HeLa)细胞购自于普诺赛生物科技有限公司。

实验仪器:透射电子显微镜(JEM-1230,日本电

子株式会社);傅里叶红外光谱仪(Tensor 27,美国热电公司);紫外分光光度计(TU-1810,日本日立公司);荧光分光光度计(AFS-680,上海美析);真空干燥箱(DZF-6020,上海精宏实验设备有限公司);高速冷冻离心机(Sigma-MK3,德国 Sigma 公司);比表面及孔径分析仪(BSD-PS,贝士德仪器)。

1.2 实验方法

1.2.1 UCNP 纳米粒子的合成

纳米载药体系的制备过程示意图如图 1 所示。称取 135.80 mg 六水氯化钇、83.85 mg 六水氯化镱

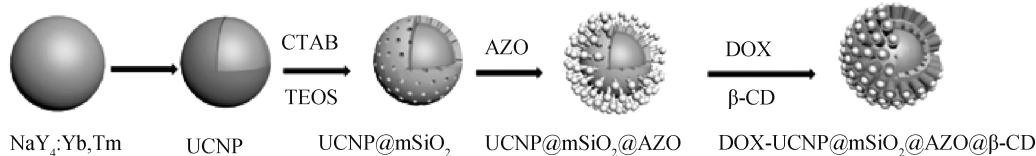


图 1 纳米药物载体制备流程及药物释放示意图

1.2.2 UCNP@mSiO₂ 核壳纳米粒子的制备

取上述制备的 UCNP 溶液 2.00 mL 加入含 8.00 mL 去离子水和 0.20 g 十六烷基三甲基溴化铵溶液的 100 mL 三口烧瓶中,超声 0.5 h。加热至 35 ℃,搅拌反应 2.0 h 后进行旋蒸,除去正己烷,得到混合溶液 7.5 mL。取 1.00 mL 氨水加入含 UCNP 粒子的混合溶液,超声 30 min,将温度继续升至 70 ℃,调节溶液 pH 值至 8。加入 4.00 mL 乙醇和 0.32 mL 正硅酸四乙酯,反应 0.5 h 后逐滴滴加 20.00 mL 3-氨基丙基三乙氧基硅烷,升温至 70 ℃继续反应 5.0 h。通过离心得到 UCNP@mSiO₂ 核壳纳米粒子。

1.2.3 偶氮苯 AZO 的合成

称取 13.72 g 对苯二甲酸于 500 mL 圆底烧瓶中,向其中加入 200.00 mL 去离子水和 33.30 mL 盐酸并不断搅拌。称取 6.90 g 亚硝酸钠与 180.00 mL 去离子水配成溶液,搅拌 30 min 后逐滴滴加到上述配制的圆底烧瓶溶液中。另取 9.40 g 苯酚、20.00 g NaOH 和 300.00 mL 去离子水于 500 mL 圆底烧瓶中,搅拌 30 min。将上述两种溶液混合,在室温下静置反应 1.5 h,用稀盐酸酸化过滤得到沉淀物,并用正己烷重结晶 3 次得到橙色晶体产物 AZO。

1.2.4 UCNP@mSiO₂@AZO 纳米复合材料的制备

称取 50.00 mg UCNP@mSiO₂ 于 250 mL 圆底烧瓶中,向其中加入 80.00 mL DMSO 和 20.00 mL 去离子水,超声 0.5 h。称取 100 mg AZO 小分子、45.00 mg DMAP 和 15.00 mg EDC

和 1.80 mg 六水氯化铈置于 100 mL 三口烧瓶中,并加入 7.00 mL 油酸和 15.00 mL 十八烯,在室温条件下通 N₂ 搅拌 0.5 h。随后将体系抽真空并将温度逐步升至 90、110 ℃ 和 140 ℃,直至溶液呈黄色澄清液。将温度降至 40 ℃,取 148.00 mg 氟化铵、100.00 mg 氢氧化钠和 10.00 mL 甲醇配制成溶液,再缓慢地滴加至上述黄色澄清溶液中,继续反应 1.5 h。将体系温度升至 80 ℃ 反应 1.0 h,300 ℃ 反应 1.5 h 至溶液呈咖啡色。将温度降至室温,离心获得的 UCNP 纳米粒子置于正己烷中保存。

添加至上述溶液搅拌反应 120.0 h。待反应完全后,依次使用 DMSO 和去离子水的混合液及甲醇和水的混合试剂洗涤混合物,过滤、冷冻、干燥得到纯固体,即为 UCNP@mSiO₂@AZO。

1.2.5 DOX 的负载和 NIR 触发的可控释放行为的研究

称取 15.00 mg DOX 于 20.00 mL 去离子水溶液配制成 0.75 mg/mL 的 DOX 溶液,超声 1.0 h 后,将 30.00 mg UCNP@mSiO₂@AZO 分散到上述 DOX 溶液中,在密封不透光的条件下搅拌反应 24.0 h。然后将 150.00 mg 的 β-CD 添加到溶液中,在室温下继续搅拌反应 96.0 h。反应结束以后,10000 r/min 离心 10 min,重复操作 3 次,取最终沉淀,即为纳米药物载体 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD。DOX 的包封率与载药率可根据式(1)和(2)计算:

$$X/\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

其中:X 为 DOX 的包封率,%;m₁ 为投入 DOX 的质量,g;m₂ 为上清液中 DOX 的质量,g。

$$Y/\% = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100 \quad (2)$$

其中:Y 为 DOX 的载药率,%;m₁ 为投入 DOX 的质量,g;m₂ 为上清液中 DOX 的质量,g;m₃ 为投入 DOX 质量与纳米载体质量复合的质量,g。纳米药物载体的包封率和载药率分别为 78%和 24%。

将 5.00 mg DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 与 200.00 mL PBS 缓冲液混合,用 980 nm NIR 光照射上述混合液,采用不同强度(0.6、1.2 W/cm²

和 1.8 W/cm²)的 NIR 及照射时间(0~19.0 h)来分析药物释放的情况,在无 NIR 照射的情况下作为对照实验。

1.2.6 细胞实验

本文采用标准 MTT 法测试材料的细胞毒性。将 HeLa 细胞以每孔 10000 个细胞的密度接种在 96 孔的培养板中,同时在 37 ℃、5% CO₂ 条件下进行培养 12.0 h。将不同质量浓度(0、3、6、12、24 μg/mL 和 8 μg/mL)的 UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 和 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD(DOX 质量浓度分别为 0、0.72、1.44、2.88、5.76 μg/mL 和 11.52 μg/mL)添加到培养基中,培养 6.0 h 后去除培养基中未被细胞内吞的 UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 和 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD,随后用不同强度(0.6、1.2 W/cm² 和 1.8 W/cm²)的 NIR 对孔板中的细胞照射 15 min,接着在黑暗条件下进一步培养 24.0 h,培养结束后,向培养基中加入一定量的 MTT(总质量浓度为 0.50 mg/mL)后在培养箱中孵育 4.0 h。随后每孔用 150.00 mL DMSO 替换培养基,并用酶标仪(Bio-TekELx800)在 490 nm 波长下监测吸光度。细胞毒性即与纳米药物载体共培养 6.0 h 后的存活细胞占总存活细胞的百分比。

1.3 测试与表征

1.3.1 形貌表征

将待测样品配成质量浓度为 0.50 mg/mL 的溶液,取 10 μL 的溶液滴于铜网上,待溶剂在室温下完全挥发后,用透射电子显微镜观察其微观形貌。

1.3.2 荧光强度测试

取 2.00 mL 待测样品于两通的比色皿中,放入荧光光谱仪中进行特征峰观察,扫描波数范围 200~800 nm。

1.3.3 结构表征

采用纤维切片器将待测样品制备成粉末,并用 KBr 压片制样。采用傅里叶变换红外光谱仪测定样品红外特征峰,扫描波数范围 4000~400 cm⁻¹,分辨率为 4 cm⁻¹,扫描次数为 32 次。

取待测样品 80.00 mg 置于 BSD-PS 仪器上,脱气温度设置为 110 ℃,测试其氮气吸附-脱附等温线。

取待测样品 5.00 mg,使用 NanoZS90 马尔文激光粒径分析仪对其进行 Zeta 电位测定;取 6.00 mg 待测样品,放置于仪器腔体内,在 N₂ 保护,10 ℃/min 的升温速率下,测试样品 50~800 ℃ 温度范围内的失重情况。

1.3.4 NIR 触发的药物释放行为

将 5.00 mg DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 装在截留分子量 3500 的透析袋中,将其放置于 200.00 mL PBS 溶液中,用 980 nm NIR 光照射上述混合液 1.0 h,取 2.00 mL PBS 溶液于两通的比色皿,放入紫外可见光光谱仪中进行特征峰观察,扫描波数范围 200~800 nm,测得吸光度,通过计算得出 PBS 溶液中 DOX 浓度,即释放的 DOX 浓度,进一步研究 DOX 释放行为。

2 结果与讨论

2.1 纳米药物载体的形貌和结构分析

对合成的纳米粒子进行形貌表征,各个步骤制备的纳米粒子的透射电镜(TEM)形貌图如图 2 所示。从图 2(a)和图 2(b)可见,合成的 NaYF₄:Tm,Yb 和 UCNP 纳米粒子呈单分散正六边形形态,NaYF₄:Tm,Yb 和 UCNP 纳米粒子的尺寸分别为 80 nm 和 90 nm。从图 2(c)可以看到很明显的 UCNP@mSiO₂ 核壳结构,且 mSiO₂ 具有清晰的介孔结构。从图 2(d)可以看出,当负载药物的纳米载体通过主客体作用被 β-CD 覆盖后,DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 结构中的 mSiO₂ 介孔结构变得模糊,表明了 β-CD 覆盖在 mSiO₂ 表面。

对纳米药物载体进行了比表面积测试,氮气吸附-脱附等温线如图 3 所示。从图 3 的曲线可以看出,UCNP@mSiO₂ 和 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 具有典型的 IV 等温曲线,H1 是滞后回线,表明所制备的纳米载体具有圆柱形通道结构;与 UCNP@mSiO₂ 相比,DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 吸附量的减少也说明了药物的成功负载。

2.2 纳米药物载体的荧光强度分析

NaYF₄:Ym,Yb 是一种上转换纳米荧光材料,其在 NIR 激光激发下(I=980 nm,1.4 W/cm)荧光强度如图 4 所示。图 4 表明,在 360、452 nm 和 474 nm 处的峰分别属于 Tm³⁺ 的¹D₂-³H₆、¹D₂-³F₄ 和¹G₄-³H₆ 跃迁;UCNP 的荧光强度高于 NaYF₄:Ym,Yb,其原因是 NaYF₄ 壳层的增强效应,×当 NaYF₄:Ym,Yb 表面包覆一层 NaF₄ 活性壳层,可以吸收更多的能量,增加了纳米粒子的吸收效率,即增强了其荧光强度;而 UCNP@mSiO₂ 的荧光强度低于 UCNP,是由于没有任何活性元素掺杂的惰性壳层 mSiO₂ 钝化了表面,导致部分荧光猝灭,减弱了其荧光强度。

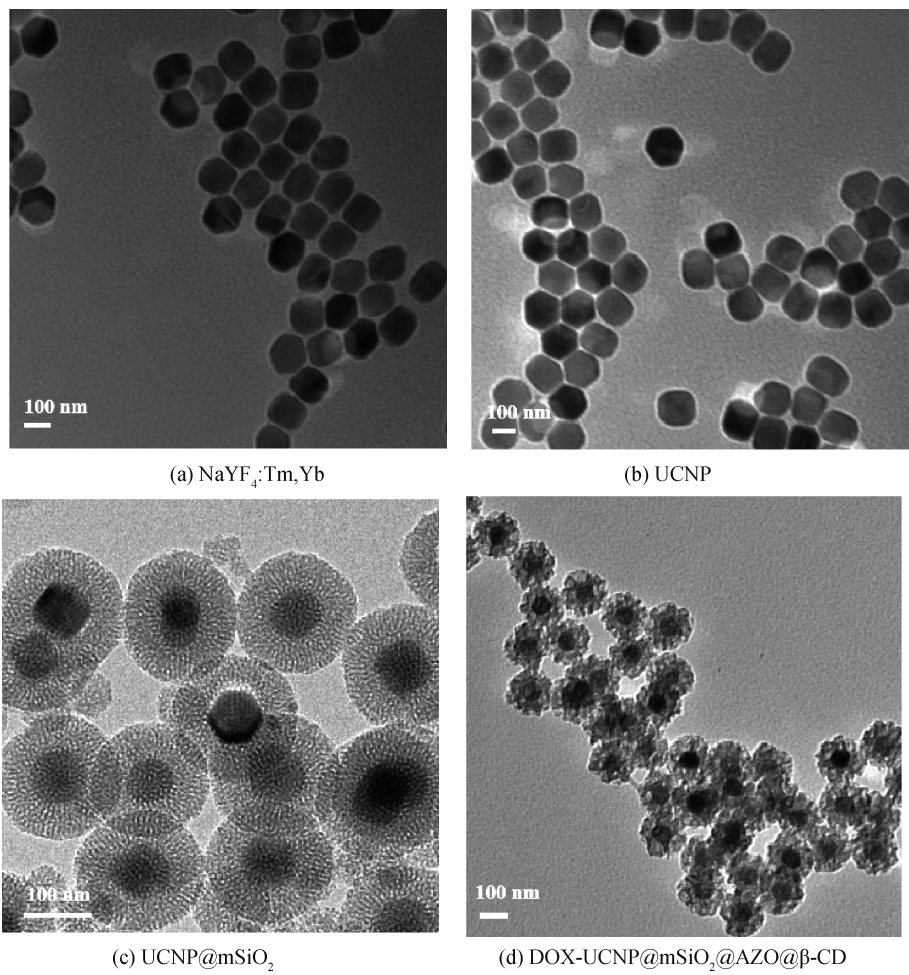


图2 不同结构修饰的纳米粒子的透射电镜图像

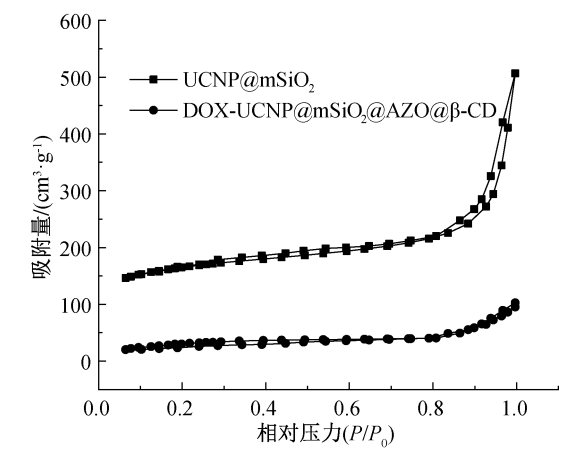


图3 UCNP@mSiO_2 和 $\text{DOX-UCNP@mSiO}_2\text{@AZO@}\beta\text{-CD}$ 的吸附—脱附等温线

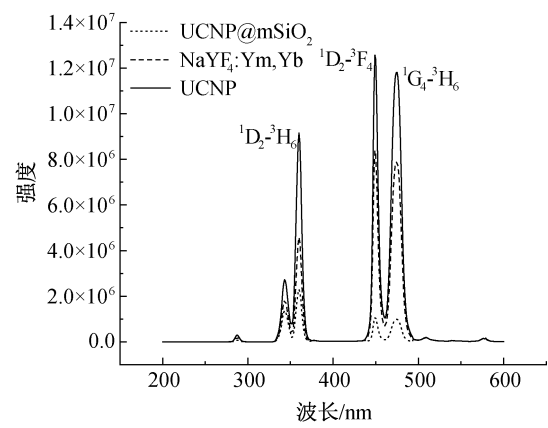


图4 $\text{NaYF}_4:\text{Ym,Yb}$ 、UCNP 和 UCNP@mSiO_2 荧光光谱图

2.3 UCNP@mSiO_2 的表面改性

利用红外光谱对纳米复合材料表面的分子结构进行表征,结果如图 5 所示。由图 5 可知,在 1070 cm^{-1} 和 809 cm^{-1} 处分别是 S—O—Si 反对称伸缩振动峰和 Si—O 键对称伸缩振动峰,在 935 cm^{-1} 处的吸收峰为氨基的特征吸收峰,证明了

氨基化的成功。同时,AZO 红外谱图表明在 1270 、 1603 cm^{-1} 和 1690 cm^{-1} 处的吸收峰分别为羟基、苯环、羧基的特征吸收峰,证明了 AZO 的成功制备。 $\text{UCNP@mSiO}_2\text{@AZO}$ 谱图表明随着 935 cm^{-1} 处的吸收峰消失及与 AZO 发生的酯化反应引起的羧基峰由 1690 cm^{-1} 到 1720 cm^{-1} 的位移,证明了 AZO 成功接枝到 mSiO_2 表面。

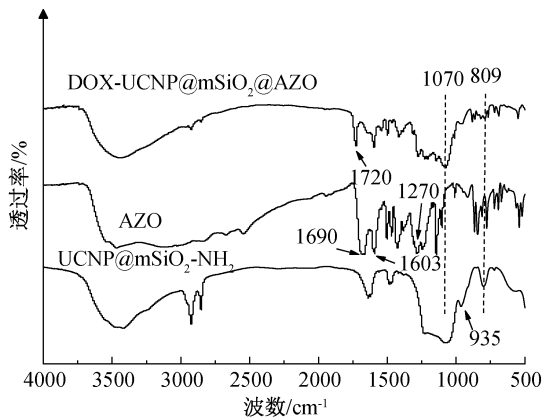


图 5 UCNP@mSiO₂-NH₂、AZO、UCNP@mSiO₂@AZO 的红外光谱图

本文对不同阶段的纳米材料进行了热重分析,结果如图 6 所示。从图 6 可以看出,UCNP@mSiO₂-NH₂、UCNP@mSiO₂@AZO 和 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 的失重分别为 21.35%、32.25%、51.36%,证明了 AZO 及 β-CD 成功修饰到了 UCNP@mSiO₂ 的表面。

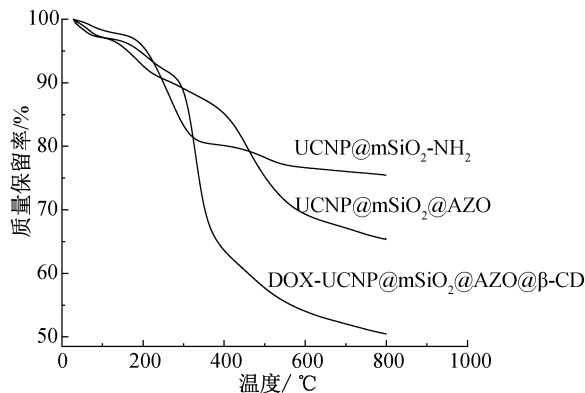


图 6 UCNP@mSiO₂-NH₂、UCNP@mSiO₂@AZO 和 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 的热重分析曲线

本文分别测试了 UCNP@mSiO₂、UCNP@mSiO₂-NH₂、UCNP@mSiO₂@AZO、DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD 的 Zeta 电位,结果如图 7 所示。从图 7 可以看出,不同纳米载体的 Zeta 电位具有不同值,进一步证实了 UCNP@mSiO₂ 表面有机分子的改性成功。

2.4 AZO 的可逆异构化

为了分析纳米载体表面修饰的 AZO 分子的顺反异构化现象,本文对 UCNP@mSiO₂@AZO 纳米粒子进行 NIR 照射前后分别测试其紫外-可见吸收光谱(UV-vis),结果如图 8 所示。图 8 表明:在强度为 45 mW/cm² 的 NIR 光下照射 15 min 后,355 nm 处的吸收峰减弱,而在 468 nm 处吸收峰增

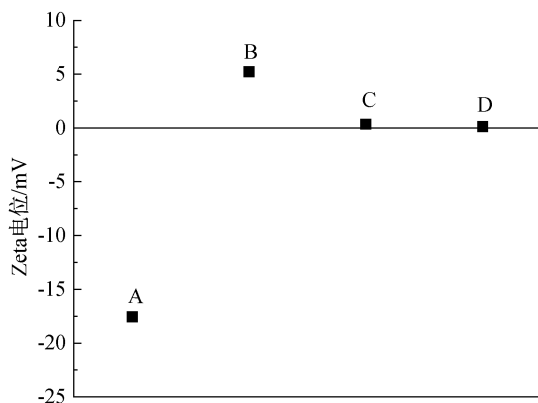


图 7 不同改性纳米复合材料的 Zeta 电位

注:A 为 UCNP@mSiO₂,B 为 UCNP@mSiO₂-NH₂,C 为 UCNP@mSiO₂@AZO,D 为 DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD。

大;355 nm 和 468 nm 处的吸收带分别属于 p-p* 和 n-p* 跃迁,表明在 NIR 照射后,转换的 UV 光使偶氮苯分子的反式异构体转变为顺式异构体。

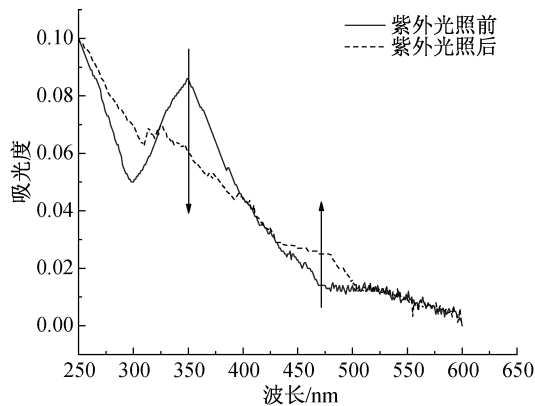


图 8 UCNP@mSiO₂@AZO 在 UV 光照射下 UV 吸收光谱

2.5 纳米药物载体在体外药物释放行为研究

在成功制备纳米药物载体之后,本文进一步研究了其在 NIR 照射下的药物释放行为。将合成的纳米药物载体溶液放置于 NIR 照射条件下培养 1 h,随后在黑暗条件下培养 1 h,以此交替处理,利用紫外-可见吸收光谱(UV-vis)在 480 nm 波长计算出药物释放率,研究其药物释放行为,结果如图 9 所示。从图 9 可见,当 NIR 照射时,DOX 释放速度加快;而在黑暗条件下,DOX 基本不释放,因此呈现出阶梯式药物释放行为;照射强度是药物释放速率的关键,随着照射时间的增长,药物的释放率持续增高,18 h 后逐渐达到平衡;在 0.6、1.2 W/cm² 和 1.8 W/cm² 的 NIR 照射下,药物的释放率分别达到 44.2%、65.3%、77.3%。随着 NIR 的照射强度的增加,药物的释放率明显增加,其原因可能是 NIR 强度的增加使得 UV 光的强度也增加,因此诱导

AZO快速的进行可逆光异构反应,导致分子帽β-CD的脱落,使得更多的药物分子释放出来。

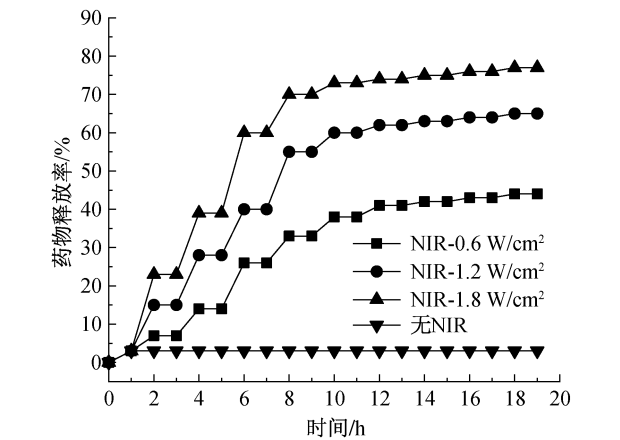


图9 NIR/黑暗条件下药物释放情况

2.6 体外细胞毒性

用不同质量浓度的UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD和DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD纳米粒子培养24 h后,用MTT法测定HeLa细胞活性,结果如图10所示。由图10可知,随着UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD和DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD的质量浓度不断增加,细胞活性无明显下降,在UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD质量浓度增加到48 μg/mL细胞存活率也可以保持在96.5%,表明了细胞毒性小,具有潜在的生物医学应用;DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD质量浓度为48 μg/mL时,细胞存活率也能达到86.7%,表明无NIR照下负载的药物基本不释放;相对比,DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD体系在NIR的照射下,随着其质量浓度的不断增加,细胞存活率明显下降,表明负载的药物被释放;游离的DOX体系细胞存活率较低,当DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD质量浓度为48 μg/mL(DOX质量浓度11.52 μg/mL)与游离的DOX质量浓度接近时,二者培养的细胞活性也比较接近,说明在NIR照射下,释放的药物对HeLa细胞的增殖具有明显的抑制作用。

为了分析NIR光照射强度对药物释放的效果,将不同质量浓度的DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD培养24.0 h后,用不同强度的NIR照射,如图11所示,发现随着NIR强度的增加,细胞的存活率普遍降低。强度为1.8 W/cm²红外光照射下细胞存活率明显低于强度为1.2 W/cm²和0.6 W/cm²。进一步证明了药物的释放与NIR照射的强度有关,这与图9的结论一致。

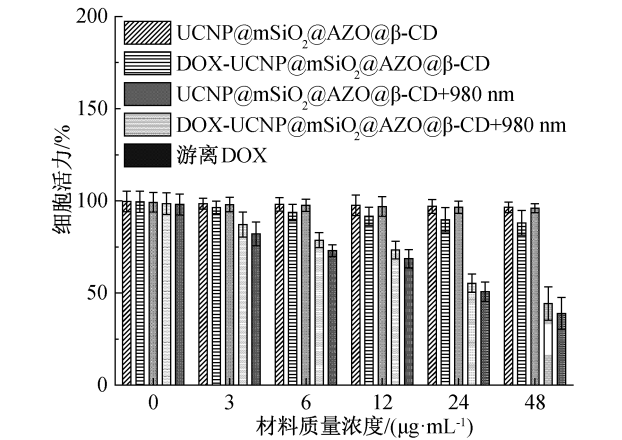


图10 模拟体内细胞毒性的研究

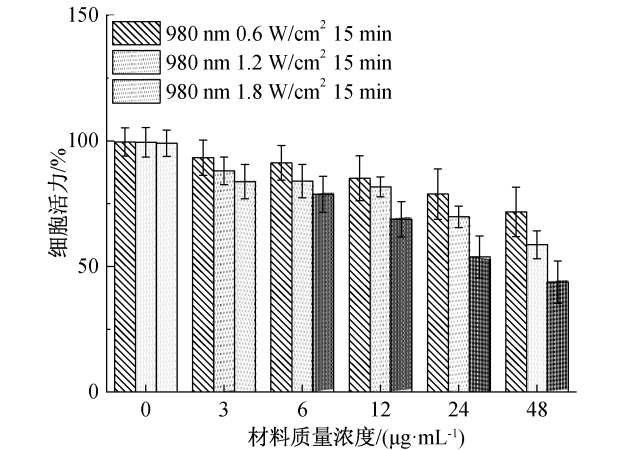


图11 模拟体内不同强度NIR对药物释放行为

3 结论

本文制备了一种NIR触发的智能纳米载体,评估其在体外NIR光照条件下的药物释放行为,并研究了纳米药物载体的细胞毒性及其NIR光照下的细胞毒性等,主要结论如下:

- a) 成功制备了负载药物的DOX-UCNP@mSiO₂@AZO@β-CD体系,计算得到其载药率为24%。
 - b) 制备的载药体系具有NIR光触发的药物释放的行为,在NIR的刺激下,药物释放速度随着NIR光照强度的增加而增加。
 - c) 以HeLa细胞作为肿瘤细胞模型,测定了纳米药物载体的细胞毒性和NIR触发下的药物释放行为,证实了纳米药物载体具有良好的生物相容性及光敏毒性。
- 本文设计的纳米载药体系实现了在NIR触发下的可控药物释放行为,同时该纳米载药体系体现出良好的生物相容性及光敏毒性。因此,该纳米载药体系在光控药物递送领域内具有一定的潜在应用价值。

参考文献:

- [1] Lei Q, Qiu W X, Hu J J, et al. Multifunctional mesoporous silica nanoparticles with thermal-responsive gatekeeper for NIR light-triggered chemo/photothermal-therapy[J]. *Small*, 2016, 12(31): 4286-4298.
- [2] Xiong X, Xu Z, Huang H, et al. A NIR light triggered disintegratable nanoplatfrom for enhanced penetration and chemotherapy in deep tumor tissues [J]. *Biomaterials*, 2020, 245:119840.
- [3] Wang F, Deng R, Wang J, et al. Tuning upconversion through energy migration in core-shell nanoparticles[J]. *Nature Materials*, 2011, 10(12): 968-973.
- [4] Wang X, Liu X, Wang L, et al. Synthesis of yolk-shell polymeric nanocapsules encapsulated with monodispersed upconversion nanoparticle for dual-responsive controlled drug release[J]. *Macromolecules*, 2018, 51(24): 10074-10082.
- [5] Tang M, Zhu X, Zhang Y, et al. Near-infrared excited orthogonal emissive upconversion nanoparticles for imaging-guided on-demand therapy [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(9): 10405-10418.
- [6] Han R, Tang K, Hou Y, et al. Fabrication of core/shell/shell structure nanoparticle with anticancer drug and dual-photosensitizer co-loading for synergistic chemotherapy and photodynamic therapy [J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2020, 297: 110049.
- [7] Wang X, Liu C, Li Z, et al. Thermal and Photo dual-responsive core-shell polymeric nanocarriers with encapsulation of upconversion nanoparticles for controlled anticancer drug release[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2019, 123(16): 10658-10665.
- [8] Yao X, Li M, Li B, et al. Tumor-targeted upconverting nanoplatfrom constructed by host-guest interaction for near-infrared-light-actuated synergistic photodynamic-/chemotherapy[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 390(15): 124516.
- [9] Zhang Z, Jayakumar M K G, Shikha S, et al. Modularly assembled upconversion nanoparticles for orthogonally controlled cell imaging and drug delivery[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(11): 12549-12556.
- [10] Cui L, Zhang F, Wang Q, et al. NIR light responsive core-shell nanocontainers for drug delivery[J]. *J Mater Chem B*, 2015, 3(35): 7046-7054.
- [11] Li P, Chen W, Yan Y, et al. Laser-triggered injectable gelatin hydrogels system for combinatorial upconversion fluorescence imaging and antitumor chemophotothermal therapy[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2019, 2(9): 3722-3729.
- [12] Li Y, Jiang C, Zhang D, et al. Targeted polydopamine nanoparticles enable photoacoustic imaging guided chemo-photothermal synergistic therapy of tumor[J]. *Acta Biomater*, 2017, 47: 124-134.
- [13] Zhang X Y, Jiang G H, Song G, et al. Fabrication of h-MnO₂@PDA composite nanocarriers for enhancement of anticancer cell performance by photo-chemical synergetic therapies[J]. *Frontiers of Materials Science*, 2021, 15(2): 291-298.
- [14] Song G, Sun Y, Liu T, et al. Transdermal delivery of Cu-doped polydopamine using microneedles for photothermal and chemodynamic synergistic therapy against skin melanoma [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 426(15): 130790.
- [15] Wang D, Zhao W, Wei Q, et al. Photoswitchable azobenzene/cyclodextrin host-guest complexes: from UV- to visible/near-IR-light-responsive systems [J]. *ChemPhotoChem*, 2018, 2(5): 403-415.

(责任编辑:张会巍)