

水溶性卟囊腔菌素二氧化硅纳米粒制备 及光动力性质研究

董超^{1,2}, 马菲^{1,2}, 周林^{1,2}, 戴冬萍^{1,2}, 冯玉英^{1,2}, 魏少华^{1,2}, 周家宏^{1,2}

(1 南京师范大学分析测试中心, 江苏 南京 210097)

(2 江苏省生物功能材料重点实验室, 江苏 南京 210097)

[摘要] 采用溶胶凝胶法合成一种水溶性卟囊腔菌素二氧化硅纳米粒, 该纳米粒有效地改善了卟囊腔菌素的水溶性及光动力性质. 研究表明, 卟囊腔菌素二氧化硅纳米粒的水溶性和单线态氧量子产率都较包裹前有明显增强. 并且通过荧光猝灭实验验证了二氧化硅纳米粒包裹的卟囊腔菌素具有不释放性.

[关键词] 卟囊腔菌素, 纳米二氧化硅, 水溶性, 荧光猝灭

[中图分类号] O657 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009)01-0095-04

Studies of Preparation and Photodynamic Properties of Water-Soluble Elnochrome A – Silica Nanospheres

Dong Chao^{1,2}, Ma Fei^{1,2}, Zhou Lin^{1,2}, Dai Dongping^{1,2}, Feng Yuying^{1,2},
Wei Shaohua^{1,2}, Zhou Jiahong^{1,2}

(1 Analysis & Testing Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

(2 Bifunctional Materials Key Laboratory of Jiangsu Province, Nanjing 210097, China)

Abstract Through sol-gel method, the water-soluble silica-nanoparticle of Elnochrome A (EASN) had been prepared successfully. The results of experiments indicated the EASN has good solubility and stronger singlet oxygen quantum yield compared with free EA in the aqueous solution.

Key words Elnochrome A, silica nanosphere, water-soluble, fluorescence quenching effect

花醌(PQ)化合物是一类分布于自然界生物中的光敏色素. 近年来发现它们具有良好的光敏杀伤肿瘤细胞和抑制艾滋病病毒 HIV-1 的作用^[1], 前人也用于治疗皮肤病^[2], 而且花醌化合物还是潜在的新型光电转换材料^[3]. 它作为新兴的光敏活性农药的研究正在受到科学工作者的重视^[4]. 卟囊腔菌素(Elnochrome A, EA)是花醌类化合物的一种, 具有单重态氧量子产率高和光毒性高的优点, 被公认为是一种极有应用前景的光疗药物^[5], 但是因为卟囊腔菌素属于亲脂性化合物, 在血液中很容易自发聚集, 会导致毛细血管栓塞形成, 从而存在难以直接静脉给药的缺点. 所以构建卟囊腔菌素水溶性纳米载体, 提高其水溶性, 避免血液传输中发生自聚集是推动其在光动力疗法领域中得到临床应用的关键.

具有核壳结构的纳米二氧化硅颗粒是一种新型的药物载体. 与先前的药物载体相比, 该类载体具有制备方法简单, 水溶液中稳定的优点^[6,7]. 本文运用溶胶-凝胶法对 EA 进行包封, 合成出水溶性的卟囊腔菌素二氧化硅纳米粒(EASN), 并通过荧光猝灭实验对其包封效果进行了表征. 初步的研究结果表明 EASN 不但有效地改善了 EA 的水溶性, 而且其单线态氧的产生能力也远远大于未包裹的 EA, 表明 EASN 在光动力疗法应用领域具有很大潜力.

1 实验部分

1.1 试剂

四甲氧基硅烷(TMOS)、N-(β-氨基基)-γ-氨基丙基-三乙氧基硅烷(APAES)、9,10-二苯基蒽丙

收稿日期: 2008-07-03

基金项目: 国家自然科学基金(20603018)、教育部重点项目(208047)资助项目.

通讯联系人: 周家宏, 副教授, 研究方向: 光化学. E-mail: zhoushijiahong@njnu.edu.cn

酸 (9, 10-DPA) 购自 Signa 公司; 甲醇, 氨水, KI 三乙胺均为国产分析纯. 水为超纯去离子水. 9, 10-DPA 使用前制备成浓度为 5.5 mmol/L 的 9, 10-二苯基蒽丙酸钠盐 (9, 10-ADPA) 水溶液. EA 在使用之前用 DMSO 配成 8 mM 的溶液, 避光保存.

1.2 仪器

紫外可见吸收光谱和荧光光谱实验分别采用 Varian 公司 Cary500 型紫外可见光谱仪和 Varian 公司 Cary Eclipse 型荧光光谱仪.

1.3 EASN 的制备

将 50 μ L DMSO 助溶的 EA 溶液、200 μ L APAES 及 200 μ L TMSO 加入 24 mL 甲醇中, 搅拌均匀后加入 0.2 mL 氨水, 反应 24 h 后, 真空干燥除去甲醇, 加入 50 mL 二次水超声溶解, 最后加入浓盐酸调整 pH 值至 7.0 得到 EASN 水溶液. 实验温度保持在室温 (20 \pm 2) $^{\circ}$ C.

1.4 荧光猝灭实验

荧光猝灭实验的检测范围 500 nm ~ 800 nm, 激发波长为 465 nm, 在实验前首先检测 EASN、EA 水溶液的荧光, 然后逐步加入不同尺寸的荧光猝灭剂 (KI 三乙胺), 每次加入 20 μ L 猝灭剂水溶液搅拌均匀, 待其作用完全后检测荧光. 记录并比较各个样品的荧光变化规律.

1.5 单线态氧量子产率的测定

EA 和 EASN 在水溶液中光敏产生单线态氧的量子产率的测定采用的是 9, 10-ADPA 光氧化漂白法^[6, 7]. 实验中的光源为 500 W 的高压汞灯, 同时在待测样品前加 470 nm 滤光片, 截去波长小于 470 nm 的光.

2 结果和讨论

2.1 光谱性质

在 350 nm ~ 800 nm 范围内, 在水溶液中的 EA 有 3 个特征吸收峰 (图 2 曲线 a), 分别位于 597 nm、554 nm 和 473 nm. 当 EA 被包封到纳米二氧化硅中时, 仍然可以观察到同样的 3 个特征吸收峰, 只是峰位发生了不同程度的蓝移, 分别移到 603 nm、566 nm 和 466 nm (图 1 曲线 b). EA 峰位发生蓝移是由于 EASN 中的 EA 所处环境的极性比水溶液中的 EA 低, 使其蓝移了 7 nm. 另外, 根据溶剂极性影响的规律, 与水溶液中的 EA 相比, EASN 中的 EA 长波长方向的 2 个峰应该发生红移^[8], 但是实验结果却是蓝移了 6 nm 和 12 nm, 这是由于 EASN 中的 EA 的羟基与纳米二氧化硅之间形成氢键, 在一定程度上抑制了 EA 分子内氢键的形成和分子内质子的传递. 该现象表明 EA 被包封在纳米二氧化硅中.

荧光光谱实验显示水溶液中的 EA 在 580 nm 处有 1 个发射峰 (图 2), 峰强为 606 当其被包封在纳米二氧化硅空心球中后, 峰强得到增强, 达到 661 这是因为当 EA 处于水溶液中时, 其激发态的 EA 分子很容易被水猝灭, 使得荧光发射峰的强度较低, 而包封在纳米二氧化硅空心球内的 EA 由于环境改变, 激发态分子避免了被水猝灭, 从而导致其具有很强的荧光^[9]. 这也有力地证明了 EA 已经成功地被包封在多孔纳米二氧化硅空心球内.

2.2 荧光猝灭

荧光猝灭是指任何可使某种给定荧光物质的荧光强度下降的作用, 是猝灭剂和荧光物质的激发态分子之间的相互作用过程, 是与自发的发射过程相竞争从而缩短激发态寿命的过程. 实验发现, 三乙胺、KI 均能有效猝灭痢囊腔菌素的水溶液 (如图 3).

由图 3 可知, 两种猝灭剂的猝灭能力大不相同, 首先可以看出 KI 的猝灭效果要强于三乙胺的猝灭效果. 这是由于三乙胺的分子直径大于纳米二氧化硅载体表面的孔道直径, 猝灭剂不能通过孔道进入纳米二

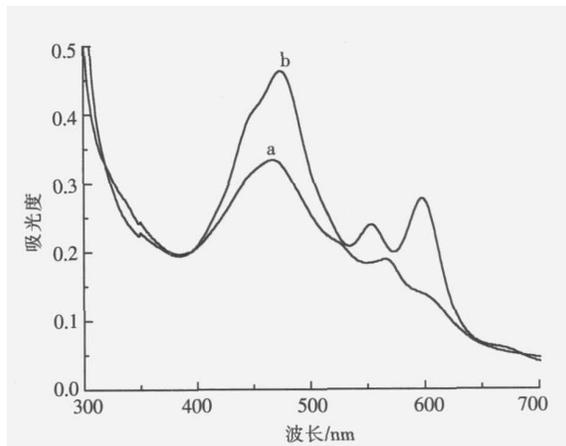


图 1 EASN 与 EA 水溶液的紫外可见吸收光谱
Fig.1 UV-visible absorption spectra of EASN (a) and EA (b) in aqueous solution

氧化硅内部,因此难以猝灭包裹于纳米二氧化硅内部痲囊腔菌素的荧光,所以三乙胺对于包裹后的 EA 的荧光猝灭效果微乎其微,而 KI 却相反,它能较为有效的猝灭包裹于纳米二氧化硅载体内部的痲囊腔菌素的荧光,这是因为 Γ 离子的直径较小,可以通过载体表面的孔道进入载体内部并猝灭痲囊腔菌素的荧光,因此可以进一步确证痲囊腔菌素被有效地包裹于纳米二氧化硅载体的内部,并且可以确证包裹痲囊腔菌素的纳米二氧化硅载体表面孔道的直径大于 Γ 离子的直径而小于三乙胺的分子直径。

2.3 单线态氧量子产率

图 4 是光照 9,10-ADPA 和 EASN (图 4A) 或 EA (图 4B) 的有氧水溶液时 9,10-ADPA 的紫外可见吸收光谱,发现随着光照时间的延长,9,10-ADPA 无论

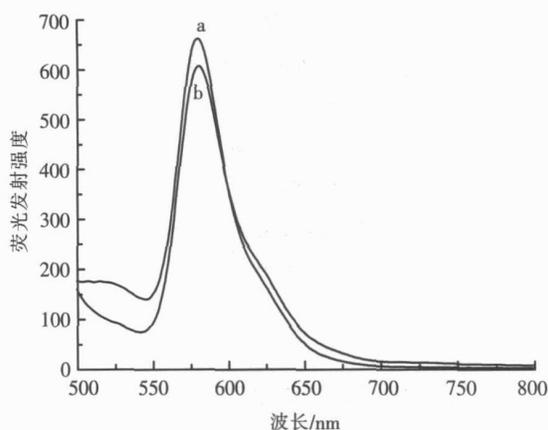


图 2 EASN 与 EA 水溶液的荧光光谱

Fig.2 Fluorescence spectra of EASN (a) and EA (b) in aqueous solution. $E_{ex}=465$ nm

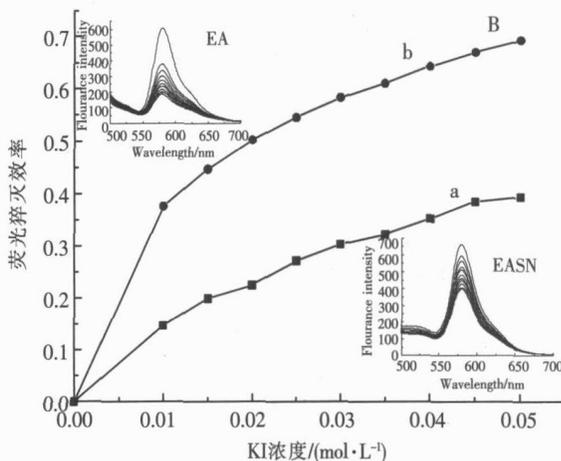
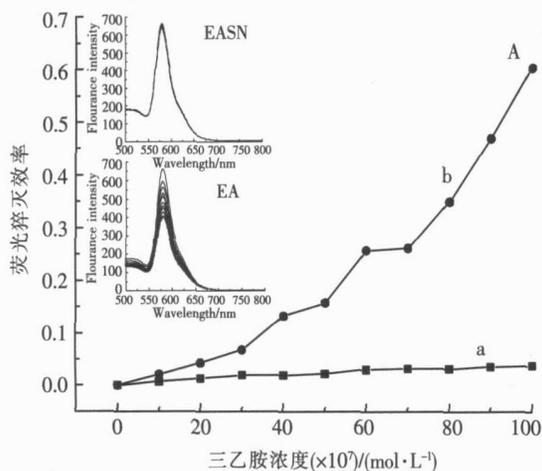


图 3 三乙胺猝灭 EASN(a)、EA(b) 的荧光猝灭趋势(A)以及 EASN(a)、KI(b) 荧光猝灭趋势(B)

Fig.3 Fluorescence quenching effect to EA and EASN by triethylamine and KI

是在 EA 水溶液中,还是在 EASN 水溶液中,其位于 345~420 nm 范围内的 3 个特征吸收峰的吸收强度均发生明显的降低。对照实验表明,若溶液中缺少 EASN (或 EA)、氧气和光照中任何一个条件,均观察不到 9,10-ADPA 漂白的现象,这说明 EA 和 EASN 的光敏过程中有单线态氧的生成。

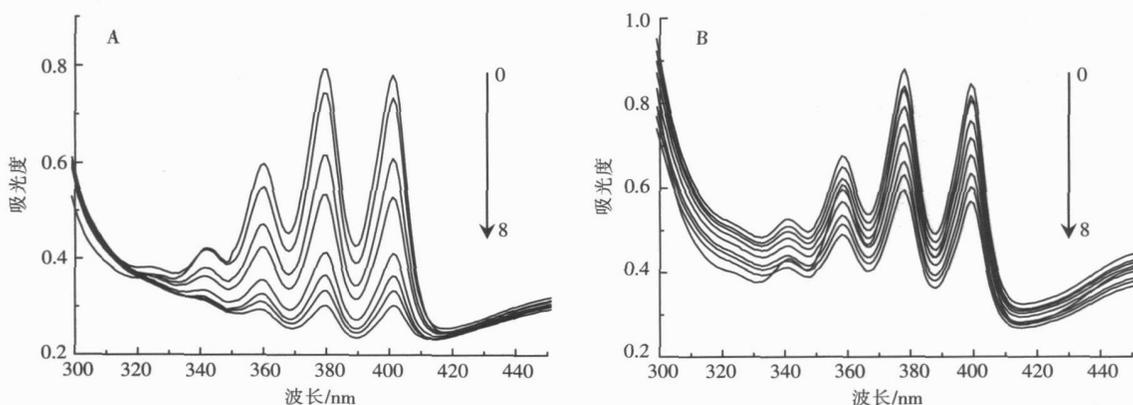


图 4 光照含 EASN 或 EA 的 9,10-ADPA 水溶液的紫外可见光谱

Fig.4 UV-visible absorption spectra of the mixture of EASN (A) or EA (B) and 9,10-ADPA after irradiation for 0~7: 0 s, 30 s, 60 s, 90 s, 120 s, 150 s, 180 s, 210 s.

图 5 是 9,10-ADPA 位于 379 nm 处特征吸收峰的吸收强度降低程度 (A) 随着光照时间变化的关系

曲线。比较图中曲线 a 和 b 可以直观地发现, EASN 光敏产生单线态氧的能力要远大于 EA。若设 EA 在水溶液中的单线态氧量子产率为 1, 则 EASN 单线态氧的量子产率高达 1.7。该结果与荧光光谱实验的结论一致, 即包封在二氧化硅纳米空心球中的 EA, 能够显著地降低水分子对其激发态的猝灭作用^[10]。

3 结 论

本文通过反向微乳液法合成了具有良好水溶性的 EASN 纳米粒, 与水溶液中的 EA 相比, EASN 单线态氧量子产率得到明显的增强, 其单线态氧量子产率是水溶液中 EA 的 1.7 倍。上述的研究结果预示 EASN 具有很好的临床应用前景, 将会进一步推动 EA 在光动力疗法领域中的临床应用进程。

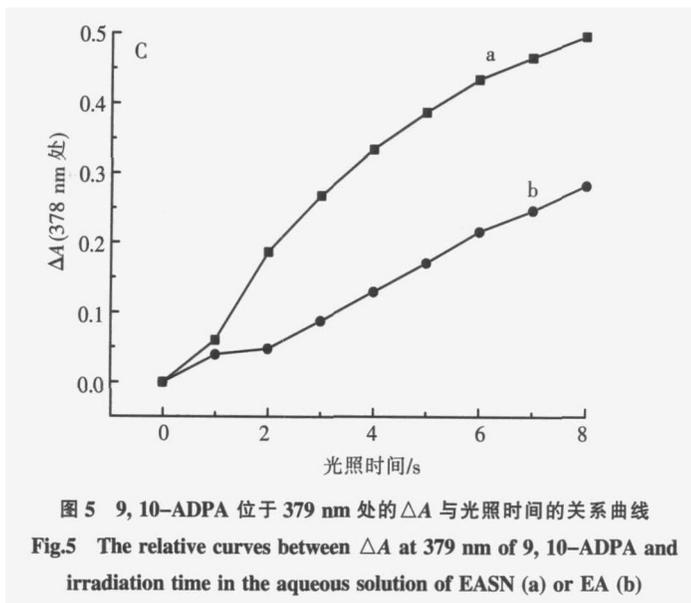


图 5 9, 10-ADPA 位于 379 nm 处的 ΔA 与光照时间的关系曲线
Fig.5 The relative curves between ΔA at 379 nm of 9, 10-ADPA and irradiation time in the aqueous solution of EASN (a) or EA (b)

[参考文献]

- [1] Hudson JB, Zhou J, Chen J, et al. Hypocrellin from *Hypocrella bambusae* is phototoxic to human immunodeficiency virus [J]. *Photochem and Photobiol* 1994, 60(3): 253-258
- [2] 王家璧, 包建南. 皮肤淀粉样变苔藓 37 例临床分析及竹红菌光化疗法治疗观察 [J]. *中国医学科学院学报*, 1985, 5(7): 349-351.
- [3] Li LM, Zhang Z Y, Wang D H, et al. The photoinduced electron transfer between hypocrellins and colloidal semiconductor. I. Kinetics of photosensitized reduction in a colloidal CdS system with hypocrellin A as a sensitizer [J]. *J Photochem Photobiol A: Chem*, 1997, 102(2/3): 279-284.
- [4] 邱勇, 宋心琦. 光活化农药 [J]. *化学通报*, 1993(1): 21-24
- [5] Taranch A S, Gianluca N, Tullio C, et al. Quantum yields of singlet-oxygen production by some natural quinoid fungal metabolites and derivatives [J]. *Helvetica Chimica Acta* 1992, 75(1): 531-538
- [6] Indrajit R, Tymish Y O, et al. Ceramide-based nanoparticles entrapping water-insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug carrier system for photodynamic therapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(26): 7860-7865.
- [7] Tang W, Xu H, Kopelman R, et al. Photodynamic characterization and in vitro application of methylene blue-containing nanoparticle platforms [J]. *Photochem and Photobiol* 2005, 81(2): 242-249.
- [8] 张红雨, 张志义, 万谦. 非离子束对竹红菌乙素及其溴代物基态和激发态的保护作用 [J]. *感光科学与光化学*, 1996, 14(2): 138-143.
- [9] 赵井泉, 赵宝忠, 谢杰, 等. 竹红菌素水溶性纳米粒及用途: 中国, CN 1565433A [P]. 2005-01-19.
- [10] 俞开潮, 程红. 光动力治疗用酞菁类光敏剂的合成研究进展 [J]. *感光科学与光化学*, 2003, 21(2): 138-146.

[责任编辑: 顾晓天]