

二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的制备和表征

丁艳², 宋开玺², 顾晓天¹, 周家宏¹, 冯玉英¹

(1 南京师范大学分析测试中心, 江苏省生物功能材料重点实验室, 江苏 南京 210097)

(2 南京师范大学化学与环境科学学院, 江苏 南京 210097)

[摘要] 采用溶胶-凝胶法合成二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒, 并利用透射电镜和粒度分析仪对其形貌和粒子大小进行测定, 证明粒子呈球形, 平均直径在 100 nm 左右; 采用紫外和荧光光谱研究二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的光谱性质, 并与未包裹的竹红菌素在水溶液中的光谱性质进行了比较, 结果表明, 竹红菌素被成功地包裹于二氧化钛纳米粒中; 包裹后竹红菌素的光谱吸收峰红移, 强度增加. 由此, 将有利于竹红菌素在光动力疗法中的应用.

[关键词] 竹红菌素, 二氧化钛, 纳米微球, 溶胶凝胶法

[中图分类号] O 653 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009) 01-0079-04

Preparation and Characterization of Hypocrellin Encapsulated in Titanium Dioxide Nanoparticles

Ding Yan², Song Kaixi², Gu Xiaotian¹, Zhou Jiahong¹, Feng Yuying¹

(1 Analysis and Testing Center, Nanjing Normal University, Biofunctional Materials Key Lab of Jiangsu Province, Nanjing 210097, China)

(2 School of Chemistry and Environmental Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract Hypocrellin encapsulated in titanium dioxide nanoparticles were prepared by sol-gel method. The TEM and grading analysis technique were used to investigate the surface morphology and the grain diameter of the resultant nanoparticles. A uniform core-shell structure with mid-diameter of 120 nm was clearly observed. The nanoparticles were characterized with UV-vis and FL techniques. The results suggested that hypocrellin has been successfully encapsulated in titanium dioxide nanoparticle and nanoshells display a strong absorption with bathochromic shift for UV-vis spectra and increased FL intensity, comparing with hypocrellin in the aqueous solution. The hypocrellin was entrapped in TiO_2 , thus it will be beneficial to the application in photodynamic treatment.

Key words hypocrellin, titanium dioxide, nanoparticles, sol-gel method

竹红菌甲素(HA)作为我国特有的一种非卟啉类光敏剂, 与现在应用最广泛的光疗药物-血卟啉衍生物类光敏剂相比, 具有易纯化、化学修饰性好、三重态量子产率高、单重态氧量子产率高、光毒性高、从正常组织排出速度快等优点, 因此被公认为是一种极有应用前景的光疗药物^[1]. 但作为光疗药物的竹红菌素是完全脂溶性的化合物, 难以满足血液中有有效传输和细胞有效吸收的双重要求. TiO_2 微球是一类粒径达纳米级, 具有多孔空心结构的聚合物球体. 纳米 TiO_2 空心球材料具有低密度、高比表面积、高的稳定性和表面渗透性的特点, 同时其空心部分可以容纳大量的客体分子或大尺寸客体, 从而产生一些奇特的基于微观“封装”“包裹”效应的性质^[2-4]. 所以用二氧化钛包裹竹红菌素可以协助竹红菌素在体内的运输. 本文采用溶胶-凝胶法合成 TiO_2 包裹竹红菌素的纳米粒子并对其进行表征.

1 实验部分

1.1 二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的制备

将 15 mmol/L HA(HA 为中科院理化所提供, 纯度 98% 以上)的乙醇溶液 0.4 mL, 无水乙醇 10 mL, 钛

收稿日期: 2008-05-08

基金项目: 国家自然科学基金(20603018)、江苏省科技发展计划(BM 2007132)资助项目

通讯联系人: 冯玉英, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 功能材料和仪器分析. E-mail: yyfeng@njnu.edu.cn

酸四丁酯 (A. R.) 1 mL, 一起加入到 100 mL 锥形瓶中, 得到混合溶液 A; 再将 5 mL 无水乙醇, 2 mL 冰醋酸以及 1.5 mL 二次水混合制得溶液 B, 在避光搅拌下将溶液 B 缓慢滴加至溶液 A, 滴加完后继续避光搅拌 4 h, 然后静置 12 h, 最终得到稳定的透明溶胶. 真空旋转蒸发除去其中的溶剂, 得到二氧化钛包裹竹红菌素的纳米粒子, 然后加入与原溶剂等体积的二次水, 超声震荡得到稳定分散于水中的二氧化钛包裹竹红菌素的溶胶.

其他条件不变, 制得了稳定透明的二氧化钛溶胶. 然后取适量的 15 mmol L HA 乙醇溶液加入到一定体积的二氧化钛溶胶中制得二氧化钛吸附 HA 的纳米粒子.

1. 2 纳米粒的表征

采用荷兰飞利浦公司的 XL30- ESEM 型透射电镜观察粒子的形貌; 在 Mastersizer 2000 激光粒度分析仪上测定粒子的粒径分布情况; 用美国瓦里安公司的 Cary 5000 型紫外 可见 近红外分光光度计, Perkin Elmer 公司的 LS 50B 型荧光光谱仪等分别测定其吸收光谱和荧光光谱.

2 结果与讨论

2. 1 二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的形貌分析

图 1 为室温下合成的二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的透射电镜照片. 从图中可以清楚的看到该纳米粒呈现球形, 且具有清晰的核壳结构. 图 2 为纳米粒的粒度分析结果, 表明纳米粒子大小主要分布在 50~ 200 nm 之间, 其中以 80~ 120 nm 区间的 TiO_2 粒子占了 51. 34%, 这与透射电镜的结果是一致的. 该纳米粒子可以长时间不沉淀, 并且能稳定的分散在水溶液中. 这样就很好地解决了竹红菌素水溶性不好的难题, 且制得的粒子对肿瘤细胞的渗透性较好^[7, 8], 对提高药物的生物利用度和靶向输送有重要意义.

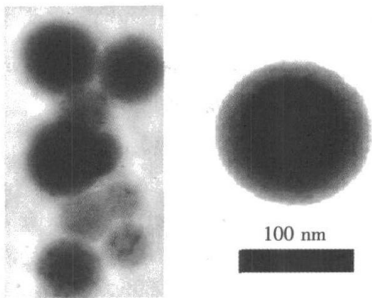


图 1 二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的 TEM 图
Fig.1 TEM images of TiO_2 nanoshells encapsulated HA

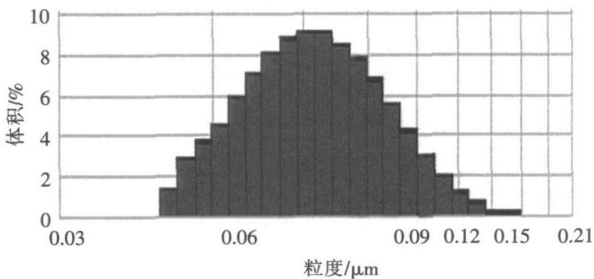


图 2 二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的粒度分布图
Fig.2 Size distribution of TiO_2 nanoshells encapsulated HA

2. 2 二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒的光谱分析

图 3 为相同浓度的 HA 水溶液、二氧化钛吸附 HA 的水溶液和二氧化钛包裹 HA 的纳米粒水溶液的紫外吸收光谱. 由图表明: 竹红菌素水溶液在波长为 400~ 600 nm 的范围内有 3 个特征吸收峰, 分别位于 461 nm、543 nm、582 nm. 该吸收是 HA 中的醌基和茚酮环形成的大 π 共扼体系的 $\pi - \pi^*$ 跃迁引起的^[1]. 相对于 HA 水溶液, 被包裹的 HA 二氧化钛纳米粒子水溶液的吸收峰发生了红移, 且摩尔消光系数也在增大. 这可能是 HA 被 TiO_2 包裹后, TiO_2 与 HA 二者之间通过氢键生成络合物所致. 这样就使得竹红菌素的光响应范围扩展到了光疗窗口 (600~ 900 nm) 内, 能更有效的应用于光动力治疗中.

在图 4 中用 480 nm 作为激发波长, 分别测定了同浓度下不同状态的 HA 的荧光发射光谱. 由图可见, 水溶液中竹红菌素在 598 nm 处有一强的荧光发射峰, 与之相联系的是分子内的质子转移过程, 存在 2 个分子内氢键.

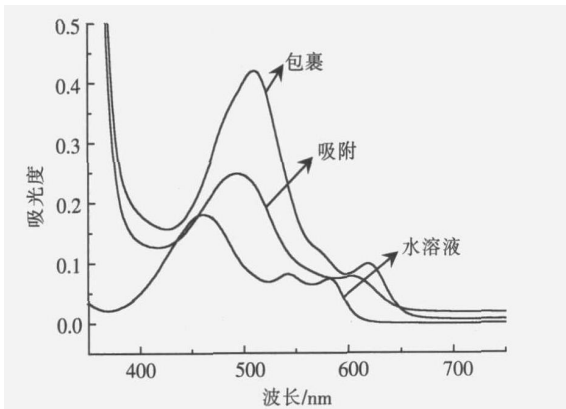


图 3 同浓度的 HA 水溶液、二氧化钛吸附 HA 的水溶液和二氧化钛包裹 HA 的纳米粒水溶液的吸收光谱
Fig.3 UV-vis absorption spectra of HA with the same concentration in the aqueous solution, absorbed on the surface of TiO_2 , and encapsulated in the interior of TiO_2

当竹红菌素被包裹后, 荧光发射峰发生红移, 且强度下降. 红移是由于 HA 和二氧化钛纳米粒表面的羟基形成了氢键导致了竹红菌素本身的分子内氢键被破坏, 分子内氢键变为分子间氢键的直接结果就是造成了 $\pi-\pi^*$ 跃迁的基态和激发态分子轨道能级上升, 但当和胶体二氧化钛作用后, 基态和激发态的分子轨道能量略有下降. 由于激发态极性, 能量下降多, 所以总的跃迁结果是发射光谱发生红移. 荧光发射强度的下降可能与 HA 和二氧化钛半导体纳米粒子表面的界面电子转移有关^[5, 6].

电子传递量增加, 分子内电子分离的程度增强, 激发态的能级明显降低, 荧光被电子转移的途径所猝灭. 且被包裹于 TiO_2 内部的 HA, 因为 HA 比较拥挤, 使得处于激发态的 HA 分子之间互相碰撞的几率增大, 从而导致被包裹的 HA 荧光强度较低, 这也证明了 HA 确实被包裹于纳米粒中.

2 3 荧光淬灭试验

为了进一步证明 HA 是否被成功包裹于二氧化钛中, 我们采用能够猝灭 HA 荧光的二乙胺为猝灭剂进行试验. 因为二乙胺分子的直径大于二氧化钛微球的孔径, 理论上认为其不会进入微球内部与 HA 发生作用. 由图 5 可见, 随着猝灭剂二乙胺的逐渐加入, 0.4 mmol/L HA 水溶液的荧光光谱强度呈快速下降趋势, 而二乙胺对同浓度的二氧化钛纳米粒包裹的 HA 几乎没有猝灭作用, 对同浓度的二氧化钛纳米粒吸附

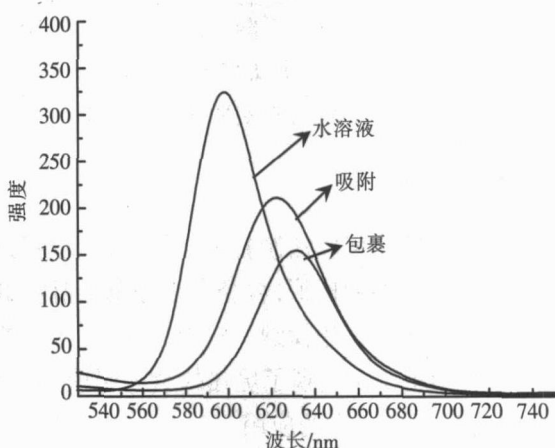


图 4 相同浓度的 HA 分别为水溶液, 被物理吸附 TiO_2 表面和被包裹于纳米粒内部的荧光发射图谱

Fig.4 Fluorescence emission spectra of HA with the same concentration in the aqueous solution, absorbed on the surface of TiO_2 and encapsulated in the interior of TiO_2

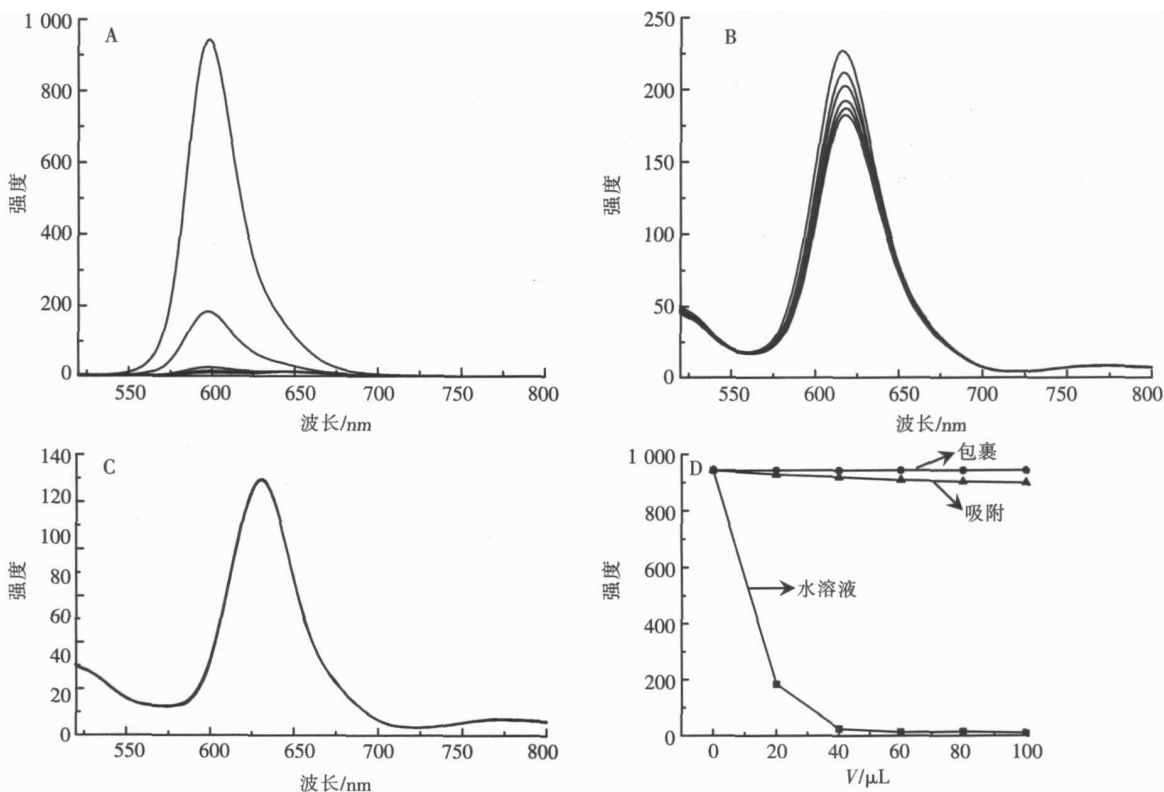


图 5 二乙胺猝灭相同浓度的 HA(0.4 mmol/L)荧光光谱图及其效果曲线

A. 水溶液中的 HA; B. TiO_2 纳米粒吸附的 HA; C. TiO_2 纳米粒包裹 HA; D. 荧光强度随猝灭剂加入量变化

Fig.5 Fluorescence emission spectra of diethylamine quenching HA with the same concentration and line of quenching

A. HA in the aqueous solution, B. HA adsorbed in the surface of TiO_2 , C. HA encapsulated in the interior of TiO_2 , D. The regular pattern of fluorescence intensity with quencher addition

的 HA 荧光猝灭能力介于两者之间. 当加入 100 μ L 的二乙胺溶液 (浓度为 4.85 mmol/L 水溶液) 后, 猝灭剂对 HA 水溶液、二氧化钛纳米粒吸附的 HA 溶液、二氧化钛包裹 HA 的纳米粒子溶液的猝灭能力分别为 98.8%, 19.9%, 0.4%, 此实验进一步证明了上述合成方法已经成功将 HA 包裹于 TiO_2 纳米粒内.

3 结 论

采用溶胶-凝胶法制备了二氧化钛包裹竹红菌素纳米粒, 并对其进行了表征. TEM 照片和粒度分析表明粒子呈完整的球形, 粒径大小分布主要在 100 nm 左右. 通过光谱分析和荧光猝灭试验证明, HA 已经被成功包裹于二氧化钛纳米粒中.

包裹后的 HA 显现了更强的紫外吸收, 并且其最大吸收波长有很明显的红移. 这些现象都将有助于 HA 在光动力疗法中的应用.

[参考文献]

- [1] 徐尚杰. 新型光动力药物——竹红菌甲素衍生物的研究与进展 [J]. 科学通报, 2003, 48(10): 1005-1015.
- [2] Canuso F, Canuso R A, Mohwald H. Nanoengineering of inorganic and hybrid hollow spheres by colloidal templating [J]. Science, 1998, 282(5391): 1111-1114.
- [3] Breen M L, Dinsmore A D, Pink R H, et al. Sonochemically produced ZnS-Coated polystyrene core-shell particles for use in photonic crystals [J]. Langmuir, 2001, 17(3): 903-907.
- [4] Dai Z, Dahne L, Mohwald H, et al. Novel capsules with high stability and controlled permeability by hierarchical templating [J]. Angew Chem Int Ed, 2002, 41(21): 4019-4023.
- [5] 刘景瑶. 竹红菌甲素的光物理——分子内质子传递和基态激发态酸碱性的研究 [J]. 科学通报, 1984, 14: 1077-1080.
- [6] 刘景瑶, 张曼华, 安静仪. 竹红菌甲素的光物理——吸收和发射光谱的研究 [J]. 感光科学与光化学, 1986, 1: 36-41.
- [7] Moreno M J, Monson E, Reddy R G, et al. Production of singlet oxygen by $\text{Ru}(\text{dpp}(\text{SO}_3)_2)_3$ incorporated in polyacrylamide [J]. PEBBLES Sens Actuators B: Chem, 2003, 90(1-3): 82-89.
- [8] Yan F, Kopelman R. The embedding of meta-tetra(hydroxyphenyl)-chlorin in silica nanoparticle platforms for photodynamic therapy and their singlet oxygen production and pH-dependent optical properties [J]. Photochem Photobiol, 2003, 78(6): 587-591.

[责任编辑: 顾晓天]