

引用格式:信富华,田梦媛,孙芳.近红外光响应香豆素基复合载体的构建及性能[J].北京化工大学学报(自然科学版),2021,48(5):76-83.

XIN FuHua, TIAN MengYuan, SUN Fang. Fabrication and performance of a near-infrared photo-responsive coumarin-based composite carrier[J]. Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science), 2021, 48(5): 76-83.

# 近红外光响应香豆素基复合载体的构建及性能

信富华<sup>1</sup> 田梦媛<sup>1</sup> 孙芳<sup>1,2\*</sup>

(北京化工大学 1. 化学学院, 北京 100029; 2. 安庆研究院, 安庆 246000)

**摘 要:**采用可逆加成-断裂链转移自由基(RAFT)聚合法制备了香豆素基紫外光响应凝胶(PG),然后通过简单的共混法,利用上转换纳米粒子(UC)和 PG 构建了近红外光响应复合载体(UC-PG)。通过透射电子显微镜(TEM)表征了 UC-PG 的微观形貌,分别利用紫外分光光度计、荧光光度计及四甲基偶氮唑盐比色法(MTT 法)研究了 UC-PG 的光化学性能、药物释放行为及 HeLa 细胞毒性。结果表明,UC-PG 的紫外吸收光谱与荧光发射光谱有一定的重叠,可以实现近红外刺激响应。在近红外光(980 nm)照射下,UC-PG 可以有效地释放模拟药物香豆素 102;照射 20 min 后,香豆素 102 的累积释放率达 72.6%,远高于 PG 在紫外光(365 nm)下照射 20 min 时的累积释放率(51.3%)。在光响应复合载体的存在下以及复合载体在 20 min 的释药过程中,复合载体对 HeLa 细胞的毒性均较低。以上结果表明所构建的近红外光响应香豆素基复合载体在药物释放领域具有潜在的应用前景。

**关键词:**上转换;光响应纳米凝胶;近红外光;香豆素;复合载体;药物释放

**中图分类号:** O633.4 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2021.05.010

## 引 言

近年来,用于药物输送的光响应复合载体被广泛研究和开发,所报道的光响应复合载体包括附着有光响应邻硝基苯基团的金纳米粒子<sup>[1]</sup>、接枝双光子香豆素基的介孔二氧化硅<sup>[2]</sup>和基于茈-3-基甲醇发色团的荧光有机颗粒<sup>[3]</sup>等。在上述光响应基团中,香豆素类光扳机分子具有良好的光学活性、较高的光解量子产率以及增强免疫的生理活性,因此广泛应用于药物输送体系的构建。光扳机分子不仅可以直接与药物分子连接,而且还可以与包裹药物的高分子链连接,通过光诱导反应破坏高分子链,使被包裹的药物释放出来。Karthik 等<sup>[4]</sup>利用香豆素基光扳机和 Fe/Si 磁性纳米粒子制备了一种用于抗癌药可控释放的光响应磁性纳米粒子(MNPs),当紫外光(UV)照射时香豆素 4 号位连接的亚甲基处的

C—O 键断裂,可实现药物的释放。Babin 等<sup>[5]</sup>利用聚(环氧乙烷)亲水链段和聚([7-(二乙基胺)香豆素-4-基]甲基丙烯酸甲酯)(PDEACMM)疏水链段制备了一种装载尼罗红的光响应共嵌段胶束,在紫外光或近红外光(NIR)照射下,PDEACMM 的光解导致胶束被破坏,从而释放出尼罗红。

目前报道较多的是香豆素基紫外光响应体系,但紫外光存在穿透能力弱以及长时间辐照有可能对生物体造成伤害等缺点,从而限制了香豆素基紫外光响应体系的实际应用。近红外光具有波长长、生物组织穿透能力强以及对细胞组织无毒无损伤等优势<sup>[6]</sup>,因此近红外光响应体系成为目前研究的热点。上转换纳米粒子是一种特殊的发光材料,其特性是可以将近红外光转化为紫外光或可见光<sup>[7]</sup>,如果在体系内部为紫外光响应凝胶加入一种能将近红外光转换为紫外光的光转换剂,就可以获得一个近红外光响应体系。

基于上述背景,本文设计并合成了粒径分布均匀的香豆素基紫外光响应凝胶,然后将上转换纳米粒子与香豆素基凝胶相结合,制备了可用于药物释放的近红外光响应复合载体,测试了其紫外吸收及荧光发射性能。将香豆素 102 作为模拟药物装载于

收稿日期:2021-07-01

基金项目:国家自然科学基金(52073018)

第一作者:女,1994 年生,硕士生

\* 通信联系人

E-mail: sunfang60@yeah.net

光响应复合载体中,探究了复合载体在近红外光照射下的光响应释放行为,并考察了其细胞毒性。

## 1 实验部分

### 1.1 实验原料和仪器

#### 1.1.1 实验原料

氧化钇( $\text{Y}_2\text{O}_3$ )、氧化镱( $\text{Yb}_2\text{O}_3$ )、氧化铥( $\text{Tm}_2\text{O}_3$ )、4-氯乙酰乙酸乙酯、聚乙二醇甲基丙烯酸酯(MPEGMA)(相对分子质量为 500)和二甲基亚砜(DMSO),萨恩化学技术有限公司;间苯二酚、硬脂酸和氟化氢铵( $\text{NH}_4\text{HF}_2$ ),北京伊诺凯科技有限公司;丙烯酸,天津市福晨化学试剂厂;1,8-二氮杂二环十一碳-7-烯(DBU),北京迈瑞达科技有限公司;2-氰基-2-丙基苯并二硫(CPBD)、无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)和香豆素 102,百灵威科技有限公司;偶氮二异丁腈(AIBN),西陇化工股份有限公司;1,4-二氧六环和二氯甲烷(DCM),天津希恩思奥普德科技有限公司;氢氧化钠( $\text{NaOH}$ )、四氢呋喃(THF)、乙酸乙酯、甲醇、无水乙醇、浓硫酸( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )和浓硝酸( $\text{HNO}_3$ ),北京化工厂;磷酸盐缓冲液(PBS,  $\text{pH} = 7.4$ )、DMEM 培养基、胎牛血清、双抗(青霉素+链霉素)和四甲基偶氮唑盐(MTT),Sigma 公司;HeLa

细胞,美国菌种保藏中心(ATCC)。以上所用的试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 实验仪器

Avance 400M 型核磁共振波谱仪(NMR),德国布鲁克公司;Nicolet 50XC 型傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR),美国尼高力公司;1515/515 型凝胶色谱仪(GPC),美国沃特世公司,实验条件:标样为聚苯乙烯,流动相为四氢呋喃,流速  $1 \text{ mL/min}$ ,柱温  $35^\circ\text{C}$ ;JEM-Z200FSC 型高倍透射电子显微镜(TEM),日本 JEOL 公司;Nano ZS ZEN 3600 型动态光散射仪(DLS),德国 Malvern 公司;Hitachi U-3010 型紫外可见分光光度计、F-7000 型荧光光谱仪,日本日立公司;FC-W-980A 型 980 nm 近红外激光器,长春新产业光电技术有限公司;BPN 500H 型细胞培养箱,上海蓝豹实验仪器有限公司;Enspire 型多功能酶标仪,珀金埃尔默医学诊断产品(上海)有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 香豆素基光响应凝胶的合成

采用可逆加成-断裂链转移自由基(RAFT)聚合合法制备香豆素基紫外光响应凝胶,其合成路线如图 1 所示。

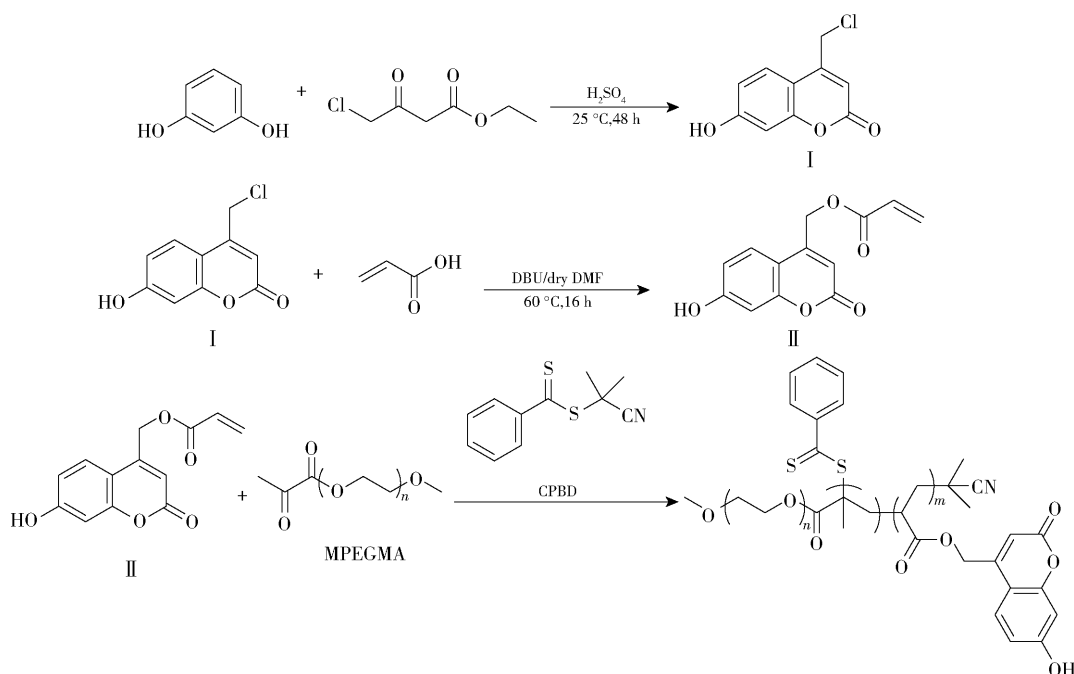


图 1 香豆素基光响应凝胶的合成路线

Fig.1 Synthesis of the coumarin-based photo-responsive gel

将间苯二酚(1.1 g)与 4-氯乙酰乙酸乙酯(1.65 g)加入到单口瓶中,于  $25^\circ\text{C}$  下搅拌 40 min 溶解,将

10 mL 浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  逐滴加入到单口瓶中。滴加结束后,常温下反应 48 h。反应完毕,向单口瓶倒入 20 mL

乙酸乙酯,然后用水和饱和 NaCl 溶液洗涤,干燥后通过柱层析提纯,获得白色固体产物,于 30 ℃ 下干燥 24 h,最后得到纯净的光响应香豆素衍生物中间体 I(1.89 g,产率:91%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.66 (s, 3H), 7.69 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 3H), 6.85 (dd,  $J$  = 8.7, 2.4 Hz, 3H), 6.76 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 3H), 6.43 (s, 3H), 4.97 (d,  $J$  = 0.8 Hz, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO -  $d_6$ ):  $\delta$  161.93, 160.62, 155.78, 151.47, 127.05, 113.55, 111.54, 109.83, 102.99, 41.84; FT - IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1750 (—C—Cl), 1649 (—C=C—), 1720 (C=O), 3017 (—ArH), 3250 (—ArOH)。

将光响应香豆素衍生物中间体 I(1.23 g)溶于 10 mL 无水 DMF 中,加入丙烯酸(0.36 g),然后在搅拌下加入 1 mL DBU,于 60 ℃ 下反应 16 h。反应结束后,向反应瓶中加入 20 mL 乙酸乙酯溶解反应液,加入 25 mL 1 mol/L HCl 中和 DBU,用水和饱和 NaCl 溶液洗涤,干燥后通过柱层析提纯,得到纯净的光响应香豆素衍生物 II(0.73 g,产率:59.4%)。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.65 (s, 2H), 7.60 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 6.83 (dd,  $J$  = 8.7, 2.4 Hz, 2H), 6.77 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 2H), 6.47 (dd,  $J$  = 17.3, 1.5 Hz, 2H), 6.35 (dd,  $J$  = 17.3, 10.2 Hz, 2H), 6.07 (dd,  $J$  = 10.2, 1.5 Hz, 2H), 5.43 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 4H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  165.34, 161.90, 160.52, 155.52, 150.87, 133.33, 128.08, 126.47, 113.61, 109.60, 108.57, 102.95, 61.88; FT - IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1620, 1681 (—C=C—), 1720 (C=O), 3017 (—ArH), 3320 (—ArOH)。

将 MPEGMA(4.38 g, 8.75 mmol)、偶氮二异丁腈(0.014 g, 0.09 mmol)和香豆素衍生物 II(0.61 g, 2.19 mmol)加入到 1,4-二氧六环中,充分混合,通入氮气除去其中的氧气。向混合溶液加入 CPBD(0.10 g, 0.44 mmol),在氮气保护下于 80 ℃ 反应 20 h,将反应瓶放入液氮中结束反应,用乙醚沉降反应液 3 次,于 25 ℃ 真空干燥 24 h,得到香豆素基光响应凝胶,标记为 PG。通过 GPC 测得光响应凝胶的相对分子质量为 19186,分散指数(PDI)为 1.12。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  10.65 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 6.46 (dd,  $J$  = 17.3, 1.6 Hz, 1H), 6.34 (dd,  $J$  = 17.3, 10.2 Hz, 1H), 6.19 (s,

1H), 6.05 (s, 1H), 5.69 (p,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 5.43 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 2H), 4.24 ~ 4.17 (m, 1H), 4.13 ~ 3.98 (m, 1H), 3.69 ~ 3.63 (m, 1H), 3.43 (dd,  $J$  = 5.9, 3.5 Hz, 2H), 2.13 (s, 1H), 2.05 ~ 1.84 (m, 2H), 1.59 (s, 3H), 1.45 (s, 6H); FT - IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1182, 1392 (C—O—C), 1736 (C=O), 2260 (—C≡N), 2856 (—CH<sub>3</sub>, —CH<sub>2</sub>), 3079 (Ar—H), 3376 (Ar—OH)。

### 1.2.2 近红外光响应复合载体的合成

根据水热法<sup>[8]</sup>制得上转换纳米粒子( $\text{NaYF}_4$ :  $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ ),标记为 UC。称取 50 mg 上转换纳米粒子和 50 mg 光响应凝胶,分别超声、搅拌溶解在 15 mL DCM 中,将光响应凝胶的 DCM 溶液逐滴加入到搅拌的上转换纳米粒子的 DCM 溶液中。滴加结束后,继续搅拌溶液使其充分混合,然后升温到 50 ℃,继续搅拌直至溶剂挥发完毕,形成一层薄膜。然后加水水化,超声溶解,离心干燥后可得白色固体,即为近红外光响应复合载体,标记为 UC-PG。

### 1.2.3 装载香豆素 102 的光响应凝胶及光响应复合载体的制备

本文使用香豆素 102 作为模拟药物进行复合载体的光热响应释放性能研究<sup>[9]</sup>。用 5 mL 无水 THF 超声溶解 50 mg 光响应凝胶,用 2 mL 无水 THF 超声溶解 20 mg 香豆素 102。在搅拌下向光响应凝胶的 THF 溶液中滴加香豆素 102 的 THF 溶液,使其混合均匀,用去离子水将混合溶液透析两天以除去 THF,将没有溶解的香豆素 102 过滤,冷冻后冻干,得到装载香豆素 102 的光响应凝胶,标记为 PG@C102。将上述光响应凝胶替换为光响应复合载体,重复以上操作,制得装载香豆素 102 的光响应复合载体,标记为 UC-PG@C102。

### 1.2.4 包封率和装载率的测定

将香豆素 102 配制成不同浓度的甲醇溶液,使用紫外可见分光光度计于 391 nm(香豆素 102 的最大吸收波长)处测定其吸光度,拟合得到香豆素 102 溶液的标准曲线为:  $Y = 72.06917X + 0.12434$ ,  $R^2 = 0.99987$ ,其中,  $X$  为香豆素 102 溶液的浓度,  $Y$  为吸光度,  $R^2$  为决定系数。根据文献[10]的方法,按照式(1)和(2)计算装载香豆素 102 的光响应凝胶和复合载体的包封率(ER)和装载率(DL)。

$$ER = \frac{m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

$$DL = \frac{m_2}{m_2 + m_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $m_1$  为加入的香豆素 102 的质量,  $m_2$  为光响应凝胶或复合载体所装载的香豆素 102 的质量,  $m_0$  为光响应凝胶或复合载体的质量。

1.2.5 刺激响应释放性能测试

分别取 5 mL 装载香豆素 102 的光响应凝胶的甲醇溶液 (0.02 mg/mL), 在 365 nm 的紫外光或 980 nm 的近红外光下照射不同时间, 然后利用荧光光谱仪测试这一系列溶液的荧光光谱, 探究光响应凝胶的释放性能。同样地, 分别取 5 mL 装载 (或未装载) 香豆素 102 的光响应复合载体的甲醇溶液 (0.02 mg/mL), 于 980 nm 的近红外光下照射不同时间, 然后测试这一系列溶液的荧光光谱, 探究光响应复合载体的释放性能。

分别取 5 mL 装载香豆素 102 的光响应凝胶的甲醇溶液, 在 365 nm 的紫外光或 980 nm 的近红外光下照射不同时间 (0、2、5、8、10、12、15、18、20 min)。同样地, 分别取 5 mL 装载香豆素 102 的光响应复合载体的甲醇溶液, 在 980 nm 的近红外光下照射不同时间。然后利用紫外可见分光光度计测定 391 nm 处的吸光度, 利用累加法计算香豆素 102 的累积释放率。

1.2.6 光响应复合载体的细胞毒性测试

为了评估光响应复合载体的细胞毒性, 通过 MTT 比色法测试其对 HeLa 细胞活力的影响。使用

含 1% 双抗和 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基, 将 HeLa 细胞置于 37℃、含 5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养, 传代至对数生长期。将 HeLa 细胞以每孔 100 μL、10<sup>5</sup> 个/mL 接种于 96 孔板, 置于细胞培养箱中培养 24 h, 使细胞完全贴壁。吸去培养基, 用 PBS 洗涤 2 次。然后将 100 μL 检测物 (质量浓度梯度为 1、5、10、15、20 μg/mL 的复合载体或近红外光照射 20 min 后装载香豆素 102 的复合载体培养基) 加入上述孔板中作为试验组, 培养 24 h, 加入 MTT 再培养 4 h。弃培养基并用 PBS 小心洗涤, 然后每孔加入 100 μL DMSO, 摇床 15 min。同时, 设置不加检测物的孔板作为对照组, 只加培养基、MTT 和 DMSO 的孔板作为空白背景组。使用酶标仪于 490 nm 处测定吸光度, 按照式 (3) 计算细胞活力  $R$ 。

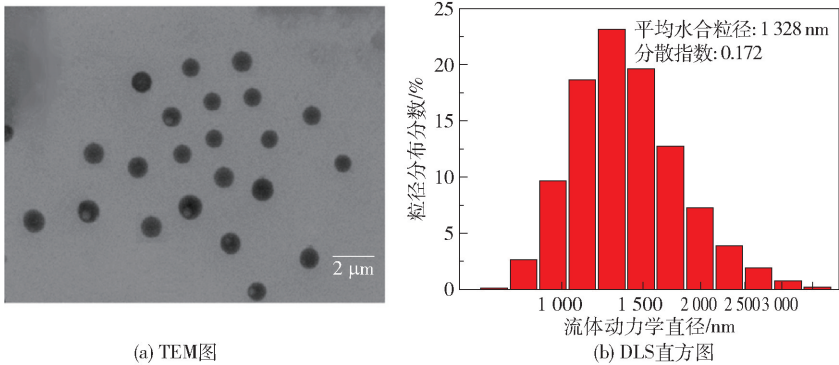
$$R = \frac{A_E - A_0}{A_C - A_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中,  $A_E$  为试验组的吸光度,  $A_C$  为对照组的吸光度,  $A_0$  为空白背景组的吸光度。细胞活力测试重复 5 次, 结果以平均值 ± 标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 光响应凝胶的微观形貌及粒径

利用 TEM 和 DLS 分别测试了光响应凝胶的微观形貌及粒径, 结果如图 2 所示。可以看到, 光响应凝胶呈均匀的球状, 平均水合粒径为 1 328 nm, 分散指数为 0.172。



(a) TEM图

(b) DLS直方图

图 2 光响应凝胶的 TEM 图和 DLS 直方图

Fig. 2 TEM image and DLS histogram of the photo-responsive gel

2.2 光响应复合载体的微观形貌及粒径

图 3(a) 为光响应凝胶负载在上转换纳米粒子后形成的光响应复合载体的 TEM 图, 可以明显看出, 上转换纳米粒子 UC 的表面包覆着一层光响应凝胶 PG, 表明上转换纳米粒子成功负载上光响应凝

胶。由图 3(b) 和 3(c) 可知, 上转换纳米粒子和光响应复合载体的平均水合粒径分别为 1 238 nm 和 1 853 nm, 与上转换纳米粒子和光响应凝胶相比, 复合载体的平均水合粒径明显增大, 但并不是上转换纳米粒子与光响应凝胶的水合粒径直接相加的结



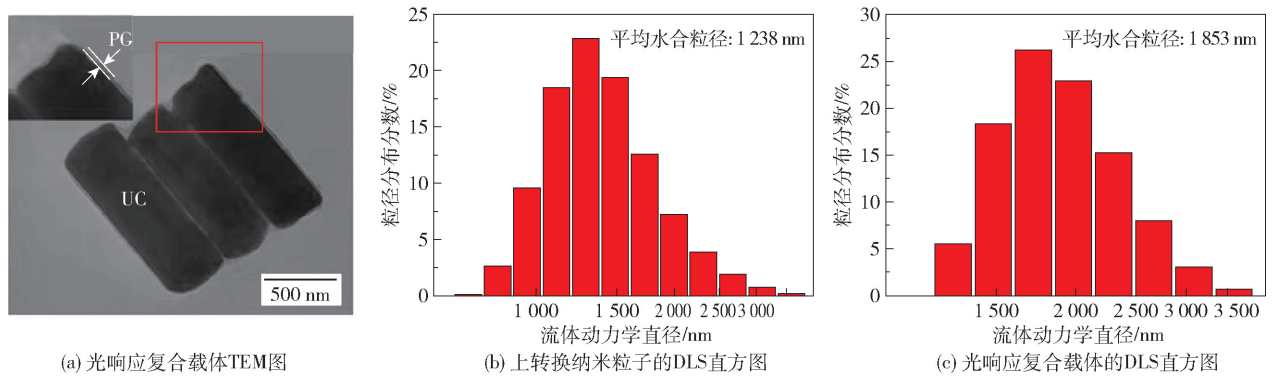


图3 光响应复合载体的TEM图及上转换纳米粒子、复合载体的DLS直方图

Fig. 3 TEM image of the photo-responsive composite carrier, and DLS histograms of upconversion particles and the composite carrier

果,其可能的原因是在合成复合载体的过程中,光响应凝胶以一层薄膜的形式包覆在上转换纳米粒子表面,所以形成的复合载体的水合粒径比二者的水合粒径直接相加的结果要小,这进一步表明成功合成了光响应复合载体。

2.3 光响应复合载体的光化学性能

利用紫外可见分光光度计和荧光光谱仪探究了光响应复合载体的紫外吸收和荧光发射性能,结果如图4所示。从紫外吸收光谱可以看出,光响应复合载体在紫外区域有较宽的吸收峰,在325 nm处的吸收峰是由光响应凝胶中香豆素类光响应基团发生 $n-\pi^*$ 跃迁产生的<sup>[11]</sup>。从荧光发射光谱可以看出,当激发波长为980 nm时,光响应复合载体在340~370 nm范围内有荧光发射峰,这是由上转换纳米粒子中 $Tm^{3+}$ 丰富的能级跃迁引起的<sup>[12]</sup>。并且光响应复合载体的紫外吸收光谱与荧光发射光谱有一定的

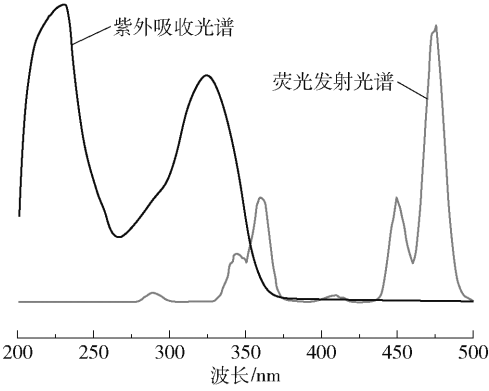


图4 光响应复合载体的紫外吸收光谱与荧光发射光谱(激发波长980 nm)

Fig. 4 Ultraviolet absorption spectrum and fluorescence emission spectrum of the photo-responsive composite carrier (excitation wavelength 980 nm)

重叠,因此光响应复合载体可以在近红外光照射下实现光裂解。

2.4 光响应凝胶和复合载体载药时的粒径、装载率和包封率

未装载与装载香豆素102的光响应凝胶和复合载体的粒径、装载率和包封率如表1所示。光响应凝胶和复合载体装载香豆素102后的粒径分别为1766 nm和2354 nm,与未装载时相比,其粒径明显增大,表明成功装载了香豆素102。光响应复合载体的装载率(11.16%)和包封率(45.7%)略大于光响应凝胶的装载率(10.32%)和包封率(43.3%),这是由于光响应复合载体比光响应凝胶的比表面积大的缘故。

表1 光响应凝胶和复合载体的粒径、装载率和包封率

Table 1 Particle size, loading rate and encapsulation rate of the photo-responsive gel and composite carrier

样品	未载药时	载药时粒	装载率/ %	包封率/ %
	粒径/nm	径/nm		
光响应凝胶	1328	1766	10.32	43.3
复合载体	1853	2354	11.16	45.7

2.5 光响应复合载体的刺激响应释放性能

在激发波长405 nm下装载香豆素102的光响应凝胶和复合载体的荧光发射光谱如图5所示。

图5(a)显示,未结合上转换纳米粒子的光响应凝胶在近红外光下照射20 min后,在478 nm处的最大荧光发射峰的强度没有明显降低,这说明在没有上转换纳米粒子的存在下,近红外光不能使装载香豆素102的光响应凝胶发生裂解而释放出香豆素102。另外,与光照射前相比,在近红外光照射20 min后光响应凝胶在478 nm处的荧光强度降低了约10%,原因可能是在近红外光照射的过程中产生的热量导致光

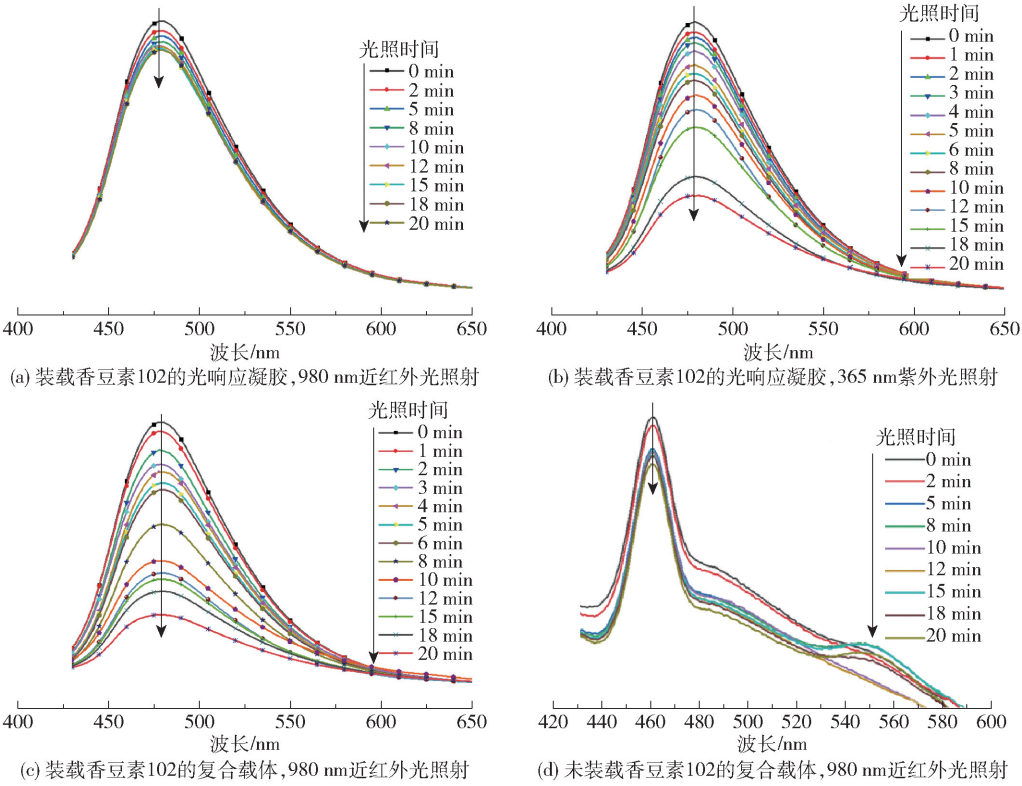


图 5 在激发波长 405 nm 下装载香豆素 102 的光响应凝胶和复合载体的荧光发射光谱

Fig. 5 Fluorescence emission spectra of the photo-responsive gel and composite carrier loaded with coumarin 102 at an excitation wavelength of 405 nm

响应凝胶发生了一定量的热降解<sup>[13]</sup>。如图 5(b) 所示,在波长 365 nm、光强 60 mW/cm<sup>2</sup> 的紫外光照射下,装载香豆素 102 的光响应凝胶的照射时间越长,其在 478 nm 处的最大荧光发射峰的强度越低,与光照射前相比,光照 20 min 后的荧光强度减小了 64.3%,说明在紫外光的作用下,光响应凝胶可以发生裂解,装载在内部的香豆素 102 分子不断被释放出来,使其荧光强度不断减小。如图 5(c) 所示,装载香豆素 102 的光响应复合载体在近红外光的照射下发生了明显的光降解现象,与照射前相比,照射 20 min 后在 478 nm 处的荧光强度减小了 73.1%,说明吸收近红外光的上转换纳米粒子放出的紫外光作用于光响应凝胶使其裂解,释放出香豆素 102,从而使荧光强度降低。另外,相比于光响应凝胶在紫外光照射下的情况,光响应复合载体在近红外光的照射下荧光强度降低的程度更大,这个现象是由于光响应复合载体在近红外光照射的过程中,不仅产生了紫外光作用于光响应凝胶,而且近红外光产生的热也作用于光响应凝胶使其发生了热裂解,光热双重作用使其释放出更多的香豆素 102。由图 5(d) 可知,在 405 nm 的激发波长下,未装载香豆素 102 的复合载体裂解所产生的香豆素光

解副产物的最大荧光发射波长为 463 nm。在 980 nm 近红外光下照射 20 min,463 nm 处的荧光强度变化不大,说明光解副产物很少,不会影响模拟累积释放试验。

图 6 显示了装载香豆素 102 的光响应凝胶和光响应复合载体在 365 nm 紫外光和 980 nm 近红外光照射下的释放曲线。可以看出,装载香豆素 102 的光响应凝胶在近红外光下照射 20 min 后,香豆素 102 的累积释放率只有 10.8%,此时的释放主要是由于近红外光所散发出的热量使光响应凝胶发生了部分热裂解,释放出香豆素 102。与其相比,光响应凝胶在紫外光下照射 20 min 后可以释放出更多的香豆素 102,累积释放率达 51.3%。对于光响应复合载体,在近红外光的作用下,受到紫外光响应和部分热响应的双重作用,照射 20 min 后香豆素 102 的累积释放率高达 72.6%,远高于光响应凝胶在紫外光下的累积释放率。因此,所合成的光响应复合载体具有优异的近红外光刺激响应释放性能,具有应用于药物释放领域的潜能。

2.6 光响应复合载体的细胞毒性

光响应复合载体以及近红外光照射 20 min

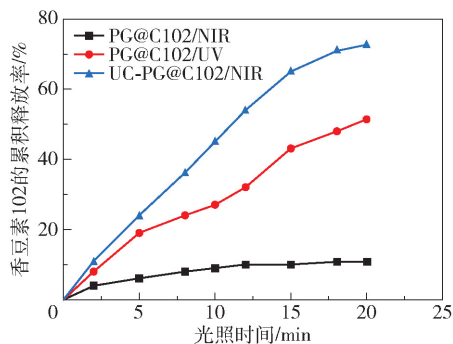
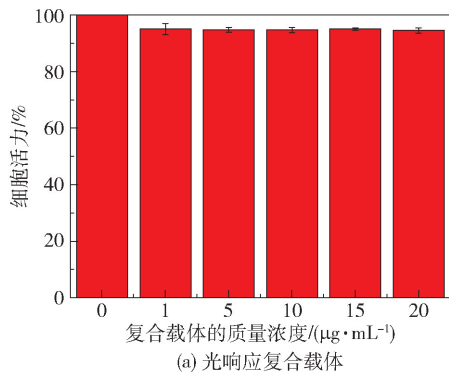


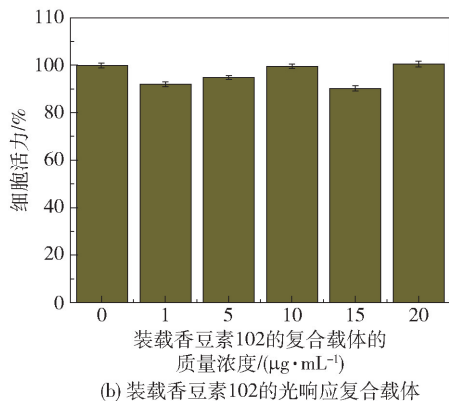
图6 装载香豆素 102 的光响应凝胶 (PG@C102) 和复合载体 (UC-PG@C102) 在 365 nm 紫外光和 980 nm 近红外光照射下的释放曲线

Fig. 6 Release profiles of the photo-responsive gel (PG@C102) and composite carriers (UC-PG@C102) loaded with coumarin 102 under 365 nm UV and 980 nm NIR irradiation

时装载香豆素 102 的复合载体对 HeLa 细胞活力的影响如图 7 所示。从图中可以看出,在光响应复合载体的存在下以及复合载体在 20 min 的药物释放



(a) 光响应复合载体



(b) 装载香豆素 102 的光响应复合载体

图7 光响应复合载体以及装载香豆素 102 的复合载体在近红外光照射 20 min 时对 HeLa 细胞活力的影响

Fig. 7 Effect of the photo-responsive composite carrier and composite carrier loaded with coumarin 102 after near-infrared light irradiation for 20 minutes on the viability of HeLa cells

过程中, HeLa 细胞均表现出较高的活力(均大于 90%),这表明光响应复合载体对 HeLa 细胞的毒性较低。

### 3 结论

(1)通过共混法制备了上转换纳米粒子表面包覆一层香豆素基光响应凝胶的近红外光响应复合载体,其紫外吸收光谱与荧光发射光谱有一定的重叠,可以实现近红外刺激响应。

(2)光响应复合载体比光响应凝胶的装载率和包封率略大。在 980 nm 近红外光作用下,装载模拟药物香豆素 102 的复合载体发生裂解,可以有效地释放香豆素 102,照射 20 min 后,累积释放率达 72.6%,远大于香豆素基凝胶在 365 nm 紫外光下照射 20 min 时的累积释放率(51.3%)。

(3)在光响应复合载体的存在下以及复合载体在 20 min 的释药过程中, HeLa 细胞活力均大于 90%,表明光响应复合载体对 HeLa 细胞的毒性较低。

### 参考文献:

- [1] AGASTI S S, CHOMPOOSOR A, YOU C C, et al. Photoregulated release of caged anticancer drugs from gold nanoparticles[J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131: 5728–5729.
- [2] LIN Q N, HUANG Q, LI C Y, et al. Anticancer drug release from a mesoporous silica based nanophotocage regulated by either a one- or two-photon process[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132: 10645–10647.
- [3] JANA A, DEVI K S P, MAITI T K, et al. Perylene-3-yl-methanol: fluorescent organic nanoparticles as a single-component photoresponsive nanocarrier with real-time monitoring of anticancer drug release[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134: 7656–7659.
- [4] KARTHIK S, PUVVADA N, KUMAR B N P, et al. Photoresponsive coumarin-tethered multifunctional magnetic nanoparticles for release of anticancer drug[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2013, 5(11): 5232–5238.
- [5] BABIN J, PELLETIER M, LEPAGE M, et al. A new two-photon-sensitive block copolymer nanocarrier[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2009, 48(18): 3329–3332.
- [6] LI K, SU Q Q, YUAN W, et al. Ratiometric monitoring

- of intracellular drug release by an upconversion drug delivery nanosystem [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(22): 12278 – 12286.
- [7] JIN X, SANG Y T, SHI Y H, et al. Optically active up-converting nanoparticles with induced circularly polarized luminescence and enantioselectively triggered photopolymerization[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(3): 2804 – 2811.
- [8] ZHANG F, LI J, SHAN J, et al. Shape, size, and phase-controlled rare-earth fluoride nanocrystals with optical up-conversion properties[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2009, 15(41): 11010 – 11019.
- [9] 符柳娃, 苏嘉辉, 严佳进, 等. 可光致变色两亲性梳状聚合物胶束的制备[J]. *广东化工*, 2018, 45(8): 8 – 10, 47.
- FU L W, SU J H, YAN J J, et al. The study of photochromic amphiphilic comb polymer micelles[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2018, 45(8): 8 – 10, 47. (in Chinese)
- [10] WEI M, GAO Y J, SUN F, et al. Design of photoinitiator-functionalized hydrophilic nanogels with uniform size and excellent biocompatibility [J]. *Polymer Chemistry*, 2019, 10(22): 2812 – 2821.
- [11] HESSZ D, HÉGELY B, KÁLLAY M, et al. Solvation and protonation of coumarin 102 in aqueous media: a fluorescence spectroscopic and theoretical study [J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2014, 118 (28): 5238 – 5247.
- [12] YUAN M H, WANG R, ZHANG C F, et al. Revisiting the enhanced red upconversion emission from a single  $\beta$ - $\text{NaYF}_4$ : Yb/Er microcrystal by doping with  $\text{Mn}^{2+}$  ions [J]. *Nanoscale Research Letters*, 2019, 14(1): 103.
- [13] DU J H, SHENG L, CHENG Q N, et al. Simple and general platform for highly adjustable thermochromic fluorescent materials and multi-feasible applications[J]. *Materials Horizons*, 2019, 6(8): 1654 – 1662.

## Fabrication and performance of a near-infrared photo-responsive coumarin-based composite carrier

XIN FuHua<sup>1</sup> TIAN MengYuan<sup>1</sup> SUN Fang<sup>1, 2 \*</sup>

(1. College of Chemistry, Beijing 100029; 2. Anqing Research Institute, Anqing 246000, Beijing University of Chemical Technology, China)

**Abstract:** An ultraviolet (UV)-responsive coumarin-based gel (PG) has been prepared by reversible addition-fragmentation chain transfer radical (RAFT) polymerization, and then a near-infrared light (NIR)-responsive composite carrier (UC-PG) was fabricated using upconversion nanoparticles (UC) and PG by a simple blending method. The microstructure of UC-PG was characterized by transmission electron microscopy (TEM). The photochemical properties, drug release behavior and cytotoxicity to HeLa cells were studied respectively by ultraviolet spectrophotometry, fluorescence spectrophotometry and tetramethylazazolium salt colorimetry (MTT assay). The results show that the ultraviolet absorption spectrum and fluorescence emission spectrum of UC-PG overlap to a certain extent, which can afford a near-infrared stimulus response. Under 980 nm NIR light irradiation, UC-PG can effectively release the simulated drug coumarin 102. After irradiation for 20 min, the cumulative release rate of coumarin 102 reached 72.6%, which was much higher than that (51.3%) of coumarin 102 in PG under 365 nm ultraviolet light irradiation for 20 min. In the presence of the photo-responsive composite carrier and the composite carrier in a 20 min drug release process, the composite carrier has low toxicity to HeLa cells. The above results indicate that the near-infrared light-responsive coumarin-based composite carrier has potential application prospects in the field of drug release.

**Key words:** upconversion; photo-responsive nanogel; near-infrared light; coumarin; composite carrier; drug release

(责任编辑: 于少云)