

载姜黄素介孔氧化硅纳米粒对乳鼠心肌细胞的保护作用

符会妮¹, 吴丽², 段连文², 吕树志^{1*}

(1. 南阳市第二人民医院, 河南 南阳 473012; 2. 新乡医学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 抑制氧化应激诱导的心肌细胞凋亡是减轻心肌损伤的有效途径。本研究以乳鼠心肌细胞系 H9c2 为模型细胞, 建立体外心肌细胞过氧化氢 (H₂O₂) 氧化损伤模型。以介孔氧化硅纳米粒 (MSNs) 为药物载体, 姜黄素 (Cur) 为模型药物, 构建负载 Cur 的纳米药物控释系统 (Cur@MSNs)。研究 Cur@MSNs 对心肌细胞氧化应激损伤的作用。MSNs 独特的介孔孔道结构可以实现对 Cur 的高效负载及缓慢释放, MSNs 表面的亲水硅羟基可以改善 Cur 的水溶性, 增加细胞对 Cur 的摄取量, 提高难溶性 Cur 的生物利用度。体外细胞实验发现, Cur@MSNs 中 Cur 保持了良好的药理活性, 且可以明显减弱 H₂O₂ 诱发的心肌细胞氧化损伤。体外细胞毒性机制研究发现, Cur@MSNs 可明显降低 H₂O₂ 氧化损伤产生的活性氧自由基含量, 从而对心肌细胞损伤起到保护作用。

关键词: 姜黄素; 自由基; 心肌疾病; 氧化应激; 心血管疾病

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 03-0468-06

The protective effects of curcumin loaded mesoporous silica nanoparticles on rat cardiomyocytes

FU Hui-ni¹, WU Li², DUAN Lian-wen², LÜ Shu-zhi^{1*}

(1. The Second People's Hospital of Nanyang, Nanyang 473012, China;

2. Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China)

Abstract: Inhibition of apoptosis induced by oxidative stress is an effective way to reduce myocardial injury. In this study, we used H₂O₂-stimulated rat cardiac myoblast cell line (H9c2) as an oxidative damage model. Curcumin (Cur) was chosen as a model drug and mesoporous silica nanoparticles (MSNs) were chosen as the carrier to construct a Cur-loaded delivery system (Cur@MSNs) and to examine its protective effects against oxidative damage. The MSNs guaranteed efficient loading and controlled release of Cur. Besides, the hydrophilic silanol groups on the surface of MSNs promoted the Cur solubility in water and increased its cellular uptake amount, which improved the bioavailability of Cur. The results suggest that the Cur@MSNs was pharmacologically active in the reduction of the oxidative damage of H9c2 cells. It was verified that a great decrease of reactive oxygen species was induced by Cur@MSNs, which led to the protective effects against oxidative damage.

Key words: curcumin; free radical; cardiomyopathy; oxidative stress; cardiovascular disease

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是一类化学性质活泼的含氧化合物, 包括单线态氧 (¹O₂)、超氧阴离子自由基 (O₂^{·-})、过氧化氢 (H₂O₂) 和羟基自

由基 (HO·) 等^[1]。研究表明, 机体处于氧化应激状态时会产生过量 ROS, 导致组织脂质过氧化水平升高, 引起 DNA 氧化损伤和蛋白质的表达异常^[2]。ROS 在心肌损伤性疾病如心肌缺血再灌注损伤、心力衰竭和高血压的发病过程中扮演着重要角色^[3]。抑制氧化应激诱导的心肌细胞凋亡是减轻心肌损伤的有效途

收稿日期: 2016-10-20; 修回日期: 2016-12-06.

*通讯作者 Tel: 86-377-61609603, E-mail: lvsz006@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1026

径^[4]。姜黄素 (curcumin, Cur) 被认为在氧化应激介导的病理状态中发挥重要作用。

Cur 是从姜黄根茎中提取的一种酚性色素, 具有抗氧化、抗动脉粥样硬化及抑制肿瘤等多种生物学效应^[5,6], 在心血管疾病中具有重要药用价值^[7,8]。已有研究发现 Cur 可以清除 HO·、超氧化物和过氧化物, 同时具有强烈的抑制脂质过氧化的能力^[9,10]。研究表明, Cur 毒性很低 (小鼠灌胃 LD₅₀ > 2 g·kg⁻¹)^[11], 但其生物利用度不高 (大鼠口服绝对生物利用度 4.13%)^[12], 这主要是因为 Cur 水溶性极低 (25 °C 水中溶解度 10.76 mg·L⁻¹), 因此限制了其临床医学应用。

介孔氧化硅纳米粒 (mesoporous silica nanoparticles, MSNs) 作为一种新型药物载体, 具有良好的生物相容性和可降解性^[13], 可增加药物的吸收, 提高其生物利用度, 并可使药物在体内达到控释和靶向治疗等优点, 被广泛用作药物/基因输送的辅助生物材料^[14]。

基于以上的分析, 本研究以 MSNs 为药物载体材料, Cur 为模型药物, 构建了一种新型纳米给药缓释系统 (Cur@MSNs)。过氧化氢 (H₂O₂) 作为一种最稳定的 ROS, 具有细胞穿透性并极易攻击细胞成分引起链式脂质过氧化反应。本研究用乳鼠心肌细胞系 H9c2 作为模型细胞, 建立 H₂O₂ 心肌损伤模型, 观察 Cur@MSNs 对 H₂O₂ 诱导的乳鼠心肌细胞氧化损伤的作用。同时初步探究其细胞作用机制, 为该药物缓释系统的临床应用提供理论支撑。

材料与方法

药品与试剂 姜黄素 (上海晶纯生化科技股份有限公司); 磷酸盐缓冲液 (PBS, 北京索莱宝生物有限公司); 2',7'-二氯双氢荧光素二乙酸酯 (DCFH-DA)、异硫氰酸荧光素 (FITC)、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT)、3-氨丙基三甲氧基硅氧烷 (APTES) 和胰蛋白酶 (美国 Sigma 公司); 胎牛血清和 DMEM/High Glucose (美国 Gibco 公司); 细胞凋亡 4',6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 检测试剂盒 (南京凯基生物技术公司); 其他试剂 (分析纯) 均购自国药集团化学试剂有限公司。

仪器 场发射透射电子显微镜 (TEM, JEM-2100F, 日本 JEOL 公司); 激光粒度 zeta 电位仪 (Zetasizer-3000HS, 英国 Malvern 公司); 倒置荧光显微镜 (Olympus IX71, 日本 Olympus 公司); 酶标仪 (Bio-TekELx800, 美国伯乐公司); 荧光光谱仪 (FluoroMax®-4, 法国 Horiba 公司); 紫外可见 (UV-vis)

分光光度计 (UV-3100, 日本 Shimadzu 公司)。

实验细胞株 乳鼠心肌细胞系 H9c2 购自中国科学院上海细胞库。常规培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基。

Cur@MSNs 制备和表征 依照文献^[15]方法制备 MSNs。将制得的 MSNs 分散到 Cur/DMSO 溶液中, 室温搅拌 24 h。产物离心、去离子水洗涤后冷冻干燥, 制得负载 Cur 的介孔氧化硅纳米粒 (Cur@MSNs)。取适量 Cur@MSNs, 以去离子水为分散介质, 采用激光粒度仪分别测定其粒径分布和 zeta 电位。另取适量纳米粒悬液滴于铜网上, 滤纸吸去过量液体, 加 1 滴 2% 磷钨酸复染, 自然晾干, 置于 TEM 下观察、拍照。

Cur@MSNs 体外释药实验 准确称量 Cur@MSNs 粉末后装入透析袋 (截留分子量 3 000~4 000 Da), 将透析袋封口后浸没在含十二烷基硫酸钠 (0.08%, w/v) 的 PBS 溶液 (pH 7.4)^[16,17]。37 °C 下恒温振荡, 定时取样, 并立即补加等量释药介质。样品用水系滤膜过滤后采用 UV-vis 分光光度计测定其吸光度, 根据标准曲线计算累积释放量。

制备 FITC 荧光标记的 Cur 和 Cur@MSNs 将 FITC 10 mg 和 APTES 24 μL 加入甲醇溶液中避光反应 24 h 制得氨基化的 FITC (FITC-NH₂)。将 Cur 和 Cur@MSNs 50 mg 分别分散到 3 mL FITC-NH₂ 溶液中, 缓慢搅拌 12 h。产物离心、甲醇洗涤后真空避光干燥, 得到 FITC 荧光标记的 Cur 和 Cur@MSNs, 分别定义为 Cur-FITC 和 Cur@MSNs-FITC。

荧光显微镜观察细胞吞噬 将 H9c2 细胞接种于玻底培养皿培养过夜。吸弃原培养基, 分别换成含 Cur-FITC 和 Cur@MSNs-FITC 的培养基, 继续培养 12 h。细胞经多聚甲醛固定后对细胞核进行 DAPI 染色: 弃去原培养基, 加入 DAPI 工作液 500 μL, 染色 15 min。弃去染色液, 加入 1 mL 台盼蓝淬灭细胞外荧光。甲醇漂洗 1 次, 用倒置荧光显微镜观察、拍照。

荧光显微镜及光谱仪检测细胞内 ROS 将 H9c2 细胞接种于培养皿培养过夜。去除原培养基, 换成含 Cur@MSNs 的培养基, 继续培养 6 h。除去液体培养基, PBS 冲洗 3 次, 加入 DCFH-DA 100 μL, 继续培养 30 min, PBS 洗涤 3 次, 采用倒置荧光显微镜观察并拍照。

同上对细胞荧光标记, 对贴壁细胞消化后将其分散到 5 mL 新鲜培养基制成细胞悬液。用血细胞计数板对悬液细胞准确计数。随后, 对细胞悬液离心并重新分散于新鲜培养基制成细胞悬液, 采用荧光光谱仪检测细胞悬液的荧光强度。

MTT 法评价 Cur 及 Cur@MSNs 体外细胞毒性

对 H9c2 细胞消化、计数后以每毫升 5×10^4 个细胞接种于 96 孔板, 37 °C 培养 24 h 使细胞贴壁。之后, 将原培养基分别换成含有 Cur 和 Cur@MSNs (Cur 浓度均为 2、8、14 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养基, 继续培养 4 或 24 h。培养结束后, 用冷 PBS 清洗 2 次, 向每孔中加入 MTT 溶液 20 μL , 继续培养 4 h。最后, 吸去 MTT, 向每孔中加入 DMSO 溶液 150 μL , 轻轻摇晃孔板使甲瓩结晶溶解后在酶标仪 ($\lambda = 490 \text{ nm}$) 上检测溶液的吸光度值 (OD)。将新鲜培养基上细胞的成活率归一化为 100%, 并作为空白对照组。

H9c2 细胞形态观察 H9c2 细胞经胰酶消化后接种于培养皿, 培养过夜使细胞贴壁, 用倒置显微镜观察贴壁后的细胞形态。去除原培养基, 换成含 Cur@MSNs 的培养基, 继续培养 24 h。之后, 除液体培养基, PBS 冲洗细胞 3 次, 倒置显微镜观察细胞形态。

统计学方法 采用 SPSS 进行统计学显著性分析。数据之间比较用 Student's *t*-test。 $P < 0.05$ 有显著性差异。

结果和讨论

1 Cur@MSNs 粒径分析

图 1A 是 Cur@MSNs 的 TEM 照片。从图中可看出 Cur@MSNs 直径约为 150 nm。激光粒度仪分析发现, Cur@MSNs 平均粒径为 153.8 nm, 多分散指数 (polydispersity index, PI) 为 0.149, 分布较为均匀 (图 1B)。

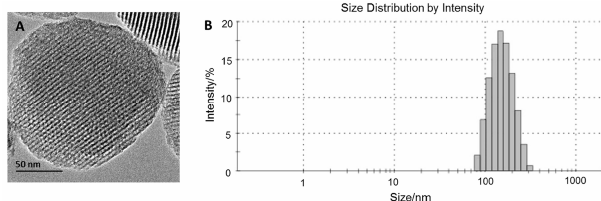


Figure 1 TEM image of Cur-loaded delivery system (Cur@MSNs, A) and dynamic light scattering particle size distribution of Cur@MSNs (B). Cur: Curcumin

2 Cur@MSNs 中 Cur 装载量及释药曲线

用 UV-vis 分光光度计检测 Cur@MSNs 中 Cur 的装载量。配制不同浓度的 Cur 乙醇标准溶液, 分别测定其在 425 nm 处的吸收峰强度 (图 2A)。根据朗伯-比尔定律绘制标准曲线。通过评价 MSNs 装载 Cur 前后 Cur 乙醇溶液的 OD 来评价溶液中 Cur 含量, 并由此计算 Cur 装载量。结果发现, Cur@MSNs 中 Cur

装载量为 14.7%。

已有研究^[18, 19]表明, 介孔氧化硅可明显改善难溶性药物 (如白藜芦醇、布洛芬和喜树碱) 的水溶性。本研究发现, 将 Cur 装入 MSNs 可明显改善其溶解度。图 2B 是自由的 Cur 和 Cur@MSNs 在 PBS 中 Cur 的溶解/释放曲线。与自由的 Cur 相比, Cur@MSNs 中的 Cur 在 PBS 中的释放速率明显提高。120 min 后, Cur@MSNs 中 Cur 的释放量为 74.1%, 而从 Cur 晶体中溶解出来的 Cur 只有 25.4%。

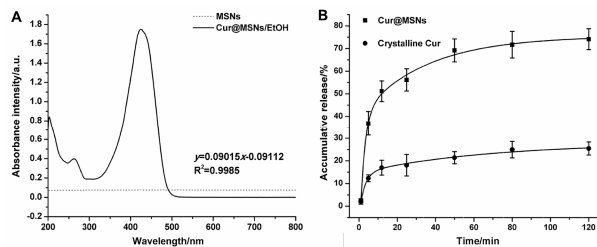


Figure 2 UV-vis absorption spectra of mesoporous silica nanoparticles (MSNs) and Cur@MSNs/EtOH solution (A). Release profile of Cur from Cur@MSNs and crystalline Cur in PBS under sink condition (B). $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

3 细胞摄取 Cur 和 Cur@MSNs

以 H9c2 细胞为模型细胞, 用 FITC 对 Cur 和 Cur@MSNs 标记 (Cur-FITC 和 Cur@MSNs-FITC) 后, 观察 H9c2 能否有效摄取 Cur 和 Cur@MSNs。图 3A~D 和图 3E~H 分别是 H9c2 对 Cur-FITC 和 Cur@MSNs-FITC 的摄取结果。其中, 图 3A 和 3E 是 H9c2 细胞的明场成像 (相差模式), 图 3B 和 3F 是 DAPI 标记后的细胞核成像, 从图中可看出蓝色细胞核成像。图 3C 和 3G 是 FITC 的荧光成像, 从图中可看到细胞质中充满了绿色的 FITC 荧光点, 说明细胞可有效摄取荧光标记的 Cur 和 Cur@MSNs, 且 Cur@MSNs-FITC 的荧光强度明显高于 Cur-FITC, 说明细胞可摄取更多 Cur@MSNs。已有研究发现, 小分子药物通常通过被动扩散进入细胞^[20]。由于 Cur 水溶性很低, 使得 Cur 的细胞摄取量大大降低。而 MSNs 主要通过内吞方式进入细胞^[20], 且 MSNs 与细胞膜表面的磷脂层具有很高的亲和力^[21], 提高了 Cur@MSNs 的细胞摄取量。细胞内绿色荧光强度定量分析 (图 3I) 发现, 与 Cur@MSNs-FITC 共培养后, H9c2 细胞内的绿色荧光强度明显高于 Cur-FITC, 进一步说明细胞可摄取更多 Cur@MSNs。

4 MTT 比色法测定 H9c2 心肌细胞活性

用 MTT 比色实验评价不同浓度 Cur 及 Cur@MSNs 对 H9c2 细胞的体外毒性作用, 并以此检测 Cur 及

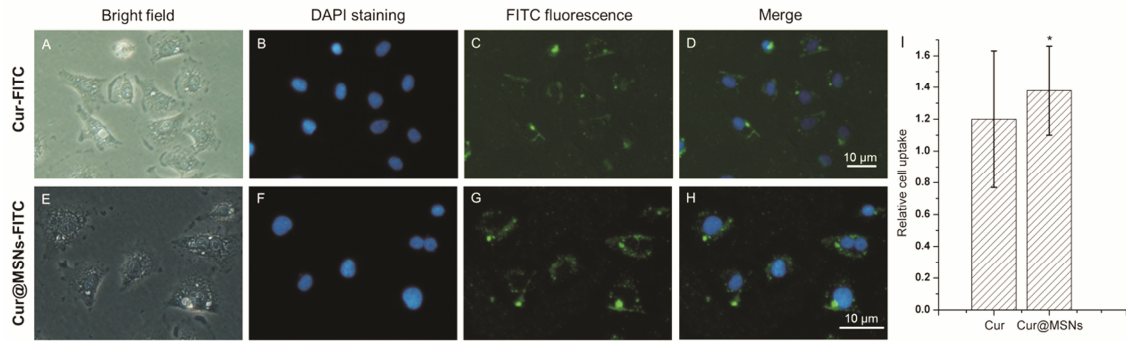


Figure 3 Cellular uptake of FITC-labeled Cur (Cur-FITC, A-D) and Cur@MSNs (Cur@MSNs-FITC, E-H) by H9c2 cells. A, E: Bright field images of H9c2 cells; B, F: Blue fluorescence images of cell nuclei stained with DAPI; C, G: Green fluorescence images of Cur-FITC and Cur@MSNs-FITC in cells; D, H: Merged fluorescence images; I: Green fluorescence intensity of H9c2 cells after incubation with Cur-FITC and Cur@MSNs-FITC for 4 h at 37 °C. $n=3$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$ vs Cur group

Cur@MSNs 中释放出来的 Cur 的药理活性差异。将无血清空白培养基中的细胞活性归一化为 100% 作为空白对照组。从图 4A 中可看出, 低剂量的 Cur 和 Cur@MSNs (Cur 浓度均为 2、8、14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 H9c2 细胞几乎无毒性, 二者的细胞活性数据无显著性差异, 说明所制备的 Cur@MSNs 中 Cur 保持了良好的药理活性。从图 4B 中可看出, 制备出的 MSNs 在适当的浓度条件下具有良好的生物相容性。用 H_2O_2 刺激 H9c2 细胞建立心肌细胞氧化损伤模型, 实验结果如图 4C 所示, H9c2 细胞成活率依赖于 H_2O_2 的作用浓度, 250、450 和 650 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2O_2 处理 H9c2 细胞 4 h 后, 细胞存活率分别为 66.96%、50.26% 和 30.09%, 且细胞成活率间呈显著性差异 ($P < 0.05$)。为了评价 Cur 及 Cur@MSNs 对细胞氧化应激损伤的作用, H_2O_2 氧化刺激细胞后, 给予 Cur 及 Cur@MSNs 培养 24 h。如图 4D 所示, H_2O_2 (450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与 Cur@MSNs (含 2、8、14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cur) 共同作用后, 细胞成活率从 50.26% 分别显著升高至 53.3%、71.1% 和 82.9% ($P < 0.01$)。而 H_2O_2 (450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与 Cur (含 2、8、14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cur) 共同作用后, 细胞成活率从 50.26% 分别升高至 52.2%、74.1% 和 67.2% ($P < 0.05$)。结果说明 Cur 和 Cur@MSNs 可明显改善 H_2O_2 引起的心肌细胞氧化损伤, 且 Cur@MSNs 比 Cur 作用更明显。之前实验结果发现, 与 Cur 相比, 细胞可以摄取更多 Cur@MSNs, 且 Cur@MSNs 可明显改善 Cur 的溶解度, 增加细胞内 Cur 的浓度, 从而增强其对心肌细胞氧化损伤的保护作用。

从细胞形态看, 给予 MSNs 培养时, 细胞排列整齐, 贴壁性良好 (图 5A); 给予 Cur@MSNs 培养时, 细胞仍保持良好的活性, 细胞形态完整 (图 5B), 这与细胞活力实验结果一致 (图 4A), 说明 Cur@MSNs

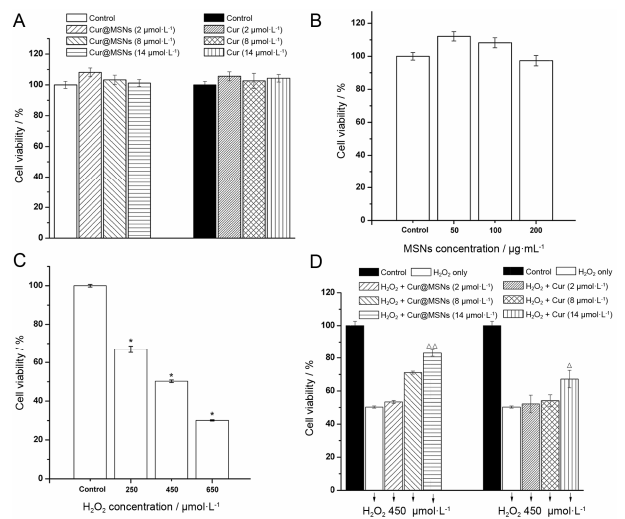


Figure 4 *In vitro* cytotoxicity evaluations by MTT assay. Fresh culture media without samples were used as controls. Cytotoxicity comparison of Cur and Cur@MSNs with equivalent Cur (2, 8, 14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (A). *In vitro* cytotoxicity of MSNs (50, 100, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) against H9c2 cells after 24 h incubation (B). *In vitro* cytotoxicity of H_2O_2 (250, 450, 650 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (C). *In vitro* cytotoxicity of H_2O_2 (450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + Cur@MSNs or Cur (containing 2, 8, 14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cur) against H9c2 cells after 24 h co-incubation (D). $n=6$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs H_2O_2 group

本身无明显毒性, 因而单独使用 Cur@MSNs 不会对正常细胞产生毒副作用。但给予 H_2O_2 刺激时, 细胞质发生肿胀并出现大量液泡化现象 (图 5C), 这是细胞氧化应激引起的细胞坏死表现, 该结果与细胞活力结果也是一致的 (图 4C)。而给予 H_2O_2 刺激并给予 Cur@MSNs 共培养时 (图 5D), 细胞数量有所减少, 这可能是部分细胞活性降低贴壁性减弱随细胞冲洗脱落引起的。从细胞形态来看, 细胞活性及贴壁性良好。结合细胞活力实验 (图 4D), 说明 Cur@MSNs 可明显降低 H_2O_2 氧化应激对细胞造成的损伤。

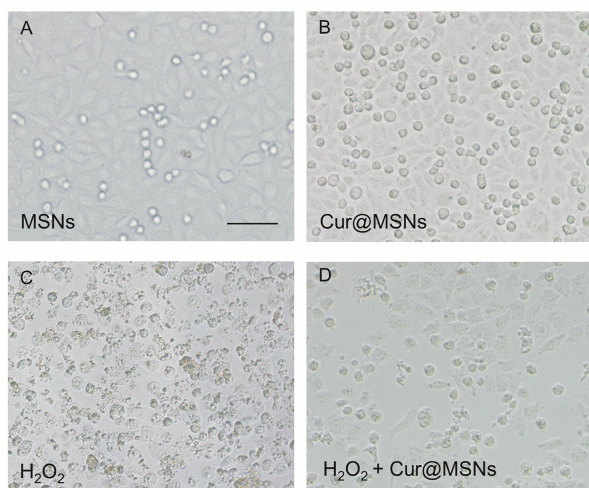


Figure 5 Microscopic images of H9c2 cells exposed to MSNs ($50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, A), Cur@MSNs (containing $8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cur, B), H_2O_2 ($450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, C) and H_2O_2 ($450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + Cur@MSNs (containing $8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cur) (D) for 24 h. The scale bar is $10 \mu\text{m}$

5 Cur@MSNs 抗氧化损伤机制

H_2O_2 作为一种 ROS, 具有诱发细胞内生物大分子氧化损伤、抑制蛋白质功能、破坏脂质、引发 DNA 链断裂进而引发细胞凋亡的活性。从体外细胞活性实验结果可见, Cur@MSNs 可抑制 H_2O_2 诱导的心肌细胞氧化应激凋亡。为了探究 Cur@MSNs 的抗氧化损伤机制, 采用 ROS 荧光探针 DCFH-DA 对细胞内 ROS 进行标记。DCFH-DA 本身无荧光, 但可穿透细胞膜, 并被细胞内酯酶分解产生 DCFH。DCFH 无荧光, 且不能穿透细胞膜, 但可选择性地与细胞内 ROS 反应产生荧光物质 2',7'-二氯荧光素 (DCF) (图 6A)。DCF 不能穿透细胞膜, 因而 DCF 的含量反映了细胞内 ROS 含量。给予新鲜培养基培养 1 h 后对其进行 DCFH-DA ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 荧光标记 30 min, 以此为空白对照。倒置荧光显微镜观察发现, 对照组细胞内出现了微弱的 DCF 绿色荧光 (图 6B), 这主要是由 DCFH-DA 在细胞内自动氧化引起的。当给予 H_2O_2 培养 1 h 后对其进行 DCFH-DA 标记时, 细胞内出现了明亮的 DCF 绿色荧光 (图 6C), 说明细胞内产生了大量 ROS。相比之下, 当给予 H_2O_2 培养 1 h, 再给予 Cur@MSNs 培养时, 细胞内 DCF 荧光明显减弱 (图 6D), 说明细胞内 ROS 含量明显降低。用荧光光谱仪对细胞内荧光强度定量分析结果 (图 6E) 与荧光显微镜观察结果一致。综上所述说明 Cur@MSNs 可明显降低细胞内的 ROS 含量。这主要是因为 Cur 分子结构的两个苯环中各有一个酚羟基和一个甲氧基 (图 6F)。之前的研究表明, 具有 1,2-二羟基基团的酚类物质具有很强的抗氧化活性, 会捕获 ROS 产

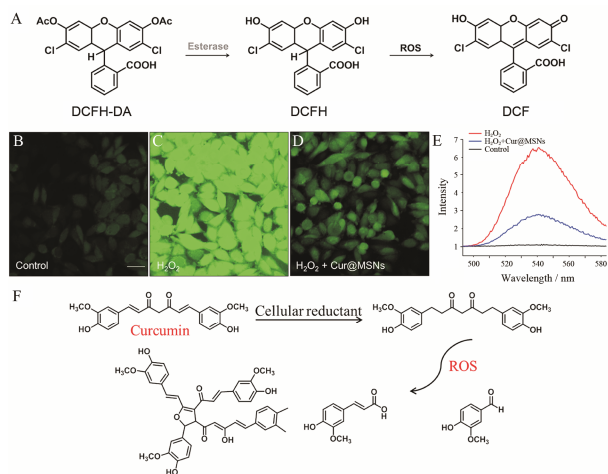


Figure 6 Illustration of intracellular reaction of DCFH-DA with reactive oxygen species (ROS), leading to the generation of fluorescent DCF. The DCF fluorescence intensity indicates the ROS amount in cells (A). Fluorescence images of ROS in H9c2 cells after incubation with H_2O_2 and H_2O_2 + Cur@MSNs (B-D). Fluorescence emission spectra of DCF in H9c2 cells after incubation with H_2O_2 and H_2O_2 + Cur@MSNs (E). Cells incubated with fresh culture media were used as the control. Illustration of intracellular reaction mechanism of Cur@MSNs with ROS (F)

生香兰醛、阿魏酸和姜黄素的二聚体, 该二聚体具有稳定的二氢呋喃结构, 在 Cur 的抗氧化过程中起重要作用^[22, 23]。

在临床工作中, 药物的用量直接关系到药物的使用效果, 尤其是针对水溶性差的药物, 不得不使用更高的药物浓度以达到良好的使用效果。但是高浓度的药物会带来更高的毒副作用。Cur 本身因为在水溶性介质中的溶解度极低, 因此其临床应用受到了很大限制。与目前国内外研究工作相比, 本研究利用 MSNs 为载体材料, 构建负载 Cur 的药物缓释体系, 可明显增加 Cur 在水溶性介质中的药物浓度。同时, 利用 MSNs 的载体作用可明显改善 Cur 的细胞摄取量, 从而降低 Cur 的给药浓度, 提高其生物利用度, 因此具有良好的临床应用前景。

结论

本研究制备了具有规则孔道结构的 MSNs 并以此为药物载体, Cur 为模型药物, 构建了一种新型纳米给药缓释系统 (Cur@MSNs)。MSNs 规则的孔道结构可实现对 Cur 的高效负载和缓慢释放, 且可以改善 Cur 的水溶性并提高其生物利用度。体外细胞实验用乳鼠心肌细胞系 H9c2 为模型细胞, 建立 H_2O_2 心肌损伤模型, 实验结果发现 Cur@MSNs 及 Cur 对 H_2O_2 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤均有明显的保护作用。与 Cur

相比, Cur@MSNs 输送系统具有更高的药理活性及心肌细胞保护效应。体外荧光探针标记发现 Cur@MSNs 可明显降低 H₂O₂ 氧化应激产生的 ROS, 从而降低了 ROS 引发的心肌细胞氧化凋亡。

References

- [1] Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, et al. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis [J]. *Science*, 2008, 320: 661–664.
- [2] Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function [J]. *Physiol Rev*, 2002, 82: 47–95.
- [3] Buja LM. Myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2005, 14: 170–175.
- [4] Kim YS, Kim JS, Kwon JS, et al. BAY 11-7082, a nuclear factor-kappaB inhibitor, reduces inflammation and apoptosis in a rat cardiac ischemia-reperfusion injury model [J]. *Int Heart J*, 2010, 51: 348–353.
- [5] Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of curcuma longa [J]. *Planta Med*, 1991, 57: 1–7.
- [6] Hatcher H, Planalp R, Cho J, et al. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65: 1631–1652.
- [7] Miriyala S, Panchatcharam M, Rengarajulu P. Cardioprotective Effects of Curcumin [M]//Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia S. *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*. US: Springer, 2007, 359–377.
- [8] Wongcharoen W, Phrommintikul A. The protective role of curcumin in cardiovascular diseases [J]. *Int J Cardiol*, 2009, 133: 145–151.
- [9] Ak T, Gulciu I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin [J]. *Chem Biol Interact*, 2008, 174: 27–37.
- [10] Jitoe-Masuda A, Fujimoto A, Masuda T. Curcumin: from chemistry to chemistry-based functions [J]. *Curr Pharm Design*, 2013, 19: 2084–2092.
- [11] Huang MT, Smart RC, Wong CQ, et al. Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate [J]. *Cancer Res*, 1988, 48: 5941–5946.
- [12] Zhang LK, Wang XZ, Li WS, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of curcumin in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报)*, 2011, 27: 1458–1462.
- [13] Tang FQ, Li LL, Chen D. Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery [J]. *Adv Mater*, 2012, 24: 1504–1534.
- [14] Li ZX, Barnes JC, Bosoy A, et al. Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2590–2605.
- [15] Chen Y, Yin Q, Ji XF, et al. Manganese oxide-based multifunctionalized mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive MRI, ultrasonography and circumvention of MDR in cancer cells [J]. *Biomaterials*, 2012, 33: 7126–7137.
- [16] Li C, Deng L, Zhang Y, et al. Silica-coated ethosome as a novel oral delivery system for enhanced oral bioavailability of curcumin [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2012, 47: 1541–1547.
- [17] Chen D, Liu Y, Fan KY, et al. Relation between drug release and the drug status within curcumin-loaded microsphere [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2016, 51: 140–146.
- [18] Yang XJ, Liu Z, Li ZH, et al. Near-infrared-controlled, targeted hydrophobic drug-delivery system for synergistic cancer therapy [J]. *Chem Eur J*, 2013, 19: 10388–10394.
- [19] He QJ, Gao Y, Zhang LX, et al. One-pot self-assembly of mesoporous silica nanoparticle-based pH-responsive anticancer nano drug delivery system [J]. *J Mater Chem*, 2011, 21: 15190–15192.
- [20] Conner SD, Schmid SL. Regulated portals of entry into the cell [J]. *Nature*, 2003, 422: 37–44.
- [21] Mornet S, Lambert O, Duguet E, et al. The formation of supported lipid bilayers on silica nanoparticles revealed by cryoelectron microscopy [J]. *Nano Lett*, 2005, 5: 281–285.
- [22] Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, et al. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36: 1967–1980.
- [23] Masuda T, Toi Y, Bando H, et al. Structural identification of new curcumin dimers and their contribution to the antioxidant mechanism of curcumin [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 2524–2530.