

基于中空介孔硫化铜的多功能纳米递药系统的构建及初步研究

王亚婷¹, 张振华¹, 冯倩华², 蔺萌^{1*}

(郑州大学 1. 基础医学院, 2. 药学院, 河南 郑州 450001)

摘要: 本文拟构建一种基于中空介孔硫化铜 (hollow mesoporous copper sulfide nanoparticles, HMCuS) 纳米粒的多功能纳米递药系统, 以实现肿瘤靶向的光动力学治疗与化疗的协同治疗。本文采用置换法合成 HMCuS 纳米粒载体, 负载多柔比星 (doxorubicin, DOX) 抗癌药物后由透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 进行表面修饰, 从而制备 DOX/HMCuS-HA 抗癌药物系统。结果表明: 所制备的 DOX/HMCuS-HA 呈现均匀球状结构, 载药量为 33.6%, 粒径和电位分别为 113.8 ± 6.9 nm 和 18.4 ± 2.8 mV。100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ HMCuS 在 808 nm 激光 ($2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) 下照射 8 min 可升温 51 $^{\circ}\text{C}$, 具有较好的产热效果。此外, 电子自旋共振 (electron spin resonance, ESR) 及亚甲基蓝 (methylene blue, MB) 实验结果表明, HMCuS 在近红外光 (near infrared, NIR) 照射下同时可以产生羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 介导光动力学治疗。体外释药结果表明, 制剂需经透明质酸酶降解后, 在酸性 pH 值和 NIR 触发下促进 DOX 的释放, 实现靶向多刺激响应型门控释药。以上结果为及时有效的抗肿瘤治疗提供了新的策略。

关键词: 纳米粒; 硫化铜; 靶向; 光动力学治疗; 光热治疗

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)08-1502-07

Construction and preliminary study of multifunctional drug delivery system based on hollow mesoporous copper sulfide nanoparticles

WANG Ya-ting¹, ZHANG Zhen-hua¹, FENG Qian-hua², LIN Meng^{1*}

(1. School of Basic Medical Sciences, 2. School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: This study aims to develop multifunctional drug delivery system based on hollow mesoporous copper sulfide (HMCuS) nanoparticles. This type of nanoparticles is expected to achieve the synergistic treatment of tumor by targeted phototherapy and chemotherapy. The carrier was synthesized by a substitution method, and the anti-cancer drug doxorubicin (DOX) was loaded and then modified by hyaluronic acid (HA) to prepare the anti-cancer drug system DOX/HMCuS-HA. The results suggested that DOX/HMCuS-HA presented uniform spherical structure, with the drug loading efficiency of 33.6%, the particle size and zeta potential being 113.8 ± 6.9 nm and 18.4 ± 2.8 mV, respectively. When 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ HMCuS was irradiated under 808 nm laser ($2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) for 8 min, the temperature can heat up 51 $^{\circ}\text{C}$, demonstrating high photothermal conversion efficacy. Electron spin resonance (ESR) tests and methylene blue degradation experiments showed that HMCuS nanoparticles could simultaneously produce hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) mediated photodynamic therapy. In addition, HA was responsible for minimizing premature drug release and increasing tumor targeting efficiency by acting as a smart gatekeeper with tumor specific targeting moiety. *In vitro* drug release experiments showed that the coated HA could be degraded by intracellular lysosomal enzyme hyaluronidase, which facilitated DOX release. The acidic micro-environment of tumor cell and external near infrared (NIR) stimulus could trigger further release of DOX from the nanoparticles. These results point to a new strategy for timely and effective anti-tumor treatment.

收稿日期: 2019-04-08; 修回日期: 2019-05-10.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202485, 81273451).

*通讯作者 Tel: 86-371-67781959, E-mail: linmeng0202@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0253

Key words: nanoparticle; copper sulfide; targeting; photodynamic therapy; photothermal therapy

目前, 肿瘤仍是经久不衰的热点话题^[1]。面临肿瘤细胞的高度转移性, 对肿瘤的高效治疗是关键。化疗药物虽是重点, 但其具有特异性差、多药耐药性和毒副作用大等缺陷。纳米递药系统以纳米粒为载体, 在其内部或表面负载治疗药物, 同时在纳米粒表面可功能化修饰, 利用实体瘤的高通透性和滞留效应或受体-配体功能实现定点靶向递送及药物控释的目的^[2-5]。纳米材料除了运载药物外, 有些纳米材料在一定的物理条件刺激下也具有治疗作用, 如纳米材料在近红外光 (NIR)、超声、交变磁场和 X-射线等物理条件下产生特定的具有疗效的分子, 可与化疗药物达到联合治疗, 极大提高抗肿瘤疗效^[6-8]。

近年来, 硫化铜 (CuS) 纳米粒作为一种新型的近红外光响应型材料^[9,10], 对 NIR 有很强的局部表面等离子共振效应 (localized surface plasmon resonances, LSPR), 具有光热转换效果^[11,12]; 同时, 在 NIR 下 CuS 泄漏的铜离子可与肿瘤周围环境的缓冲液基质通过 Haber-Weiss 循环发生氧化还原反应产生羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 进行光动力学治疗 (photodynamic therapy, PDT)。因此, CuS 可以在 NIR 下同时达到光热治疗 (photothermal therapy, PTT) 和光动力学治疗 (PDT)^[13]。其中, 中空介孔硫化铜 (HMCuS) 纳米粒的中空空腔和孔道结构均可荷载客体物质, 比表面积大, 载药能力强^[14,15]。可选择 HMCuS 作为化疗药物载体, 实现热疗-光动力学治疗-化疗的联合作用。对于未修饰的介孔纳米递药系统来说, 在体内运输过程中药物分子可能会从孔道中泄漏, 降低靶部位的药物浓度, 且到达肿瘤部位后药物能否从介孔内部有效释放也是亟需解决的问题, 故需对 HMCuS 表面加以修饰^[12]。

透明质酸 (HA) 作为内源性黏多糖, 在生理环境中呈现扩大的不规则螺旋结构^[16], 可作为“盖帽剂”修饰在 HMCuS 表面, 形成紧密的层状结构, 有效防止 HMCuS 内部药物分子在体循环过程中泄漏。此外, 药物转运过程中, HA 作为配体可与大多数肿瘤细胞表面高表达的 CD44 受体特异性结合, 通过 CD44 受体介导的内吞作用进入肿瘤细胞^[17-19]。据报道, 大多数恶性肿瘤细胞的溶酶体内高表达透明质酸酶, 可以将 HA 降解为小分子四糖, 继而将 HMCuS 的孔洞打开, 药物释放, 实现酶响应型释药特征。

本研究选用盐酸多柔比星 (DOX) 抗癌药物为模型药物^[11,12], 制备基于 HMCuS 的多功能纳米递药系统, 有望实现热疗-光动力学治疗-化疗的协同治疗。

材料与方法

材料与仪器 氯化铜 (天津市光复科技发展有限公司); 硫化钠 (天津市风船化学试剂有限公司); 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP-K30) (北京索莱宝科技有限公司); 水合肼、巯基乙胺 (国药集团化学试剂有限公司); DOX (大连美仑生物科技有限公司); HA (相对分子量 12 000, 山东福瑞达生物医药有限公司); 碳二亚胺盐酸盐 (EDC·HCl)、*N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 和亚甲基蓝 (MB) (阿拉丁试剂有限公司); 透明质酸酶 (上海生工生物工程股份有限公司); 其余试剂均为分析纯。

JY 92-II DN 超声波细胞粉碎机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); Waters e2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Nano-ZS90 型激光粒度分析仪 (英国马尔文公司); UV-2550 型紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司); Tecnai G2 20 型透射电子显微镜 (美国 FEI 公司); 808 nm 激光仪 (长春镭仕光电科技有限公司)。

HMCuS 纳米粒的合成 称取聚乙烯吡咯烷酮 (PVP-K30) 480 mg 溶解于 50 mL 水中, 加入 CuCl_2 溶液 ($0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 200 μL , 搅拌 5 min 后加入 NaOH 溶液 (pH 9) 50 mL 及水合肼 16 μL 。反应 5 min 后, 再加入 Na_2S 溶液 ($320 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 400 μL , 60°C 下油浴搅拌 2 h。反应结束后, 离心得沉淀, 用超纯水洗涤至中性, 干燥后即得 HMCuS 纳米粒。

HMCuS 纳米粒的表征

形态观察 将 HMCuS 的乙醇溶液滴到铜网上制样, 待溶剂挥发完全后置于透射电子显微镜下观察并记录图片, 同时对样品进行元素信号采集并记录。

X-射线衍射 (XRD) 取 HMCuS 粉末置于 X-射线衍射仪中进行信号采集, 记录数据并绘制 XRD 图谱, 与标准卡片进行比对分析。

DOX/HMCuS-HA 递药系统的制备 将 HMCuS 50 mg 借助探头超声分散于 200 mL 超纯水中, 加入巯基乙胺 100 mg, 搅拌 24 h, 离心得沉淀, 用超纯水洗 2~3 遍, 直至中性。冷冻干燥, 得到氨基化 HMCuS 复合物 (HMCuS-NH₂)。

取 HMCuS-NH₂ 10 mg 借助探头超声分散于 10 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS) 中, 加入 10 mL 含 20 mg DOX 的 PBS 溶液, 室温搅拌 24 h, 离心洗涤后即得 DOX/HMCuS。

称取 HA 100 mg 溶于 20 mL PBS 中, 按照 HA: EDC·HCl:NHS 摩尔比 1:1:1 依次加入 EDC·HCl 和 NHS, 室温搅拌活化 30 min。之后将以上溶液逐滴加

入 10 mg DOX/HMCuS 分散液中, 搅拌反应 24 h。离心得沉淀, 冷冻干燥后即得 DOX/HMCuS-HA。

DOX/HMCuS-HA 递药系统的表征

载药量测定 制备 DOX/HMCuS-HA 时收集离心上清液, 测定上清中游离 DOX 含量, 荷载药物量 = 投药量 - 游离药物量。按以下公式计算载药量: 载药量 (%) = [荷载药物量 / (荷载药物量 + 载体量)] × 100。DOX 的检测方法按照 HPLC 测定法 (中国药典 2015 版二部), 检测波长为 254 nm。DOX 标准曲线的建立: 精密称取 DOX 5.0 mg, 配制成质量浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的 DOX 储备液, 并稀释成浓度梯度为 100、50、20、10、5、1 和 0.5 μg·mL⁻¹ 标准溶液, 以 DOX 浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标作图得到 DOX 的标准曲线。

光谱表征 紫外可见吸收光谱: 将 HMCuS 和 DOX/HMCuS-HA 溶液分别采用紫外-可见分光光度计在 200~1 000 nm 下进行全波长扫描并记录光谱图。红外光谱: 取适量 HMCuS、HMCuS-NH₂ 和 HMCuS-HA 粉末, 分别采用 KBr 压片法制样, 于红外光谱仪下采集样品信号得红外光谱。

透射电镜观察 取 HMCuS、DOX/HMCuS、DOX/HMCuS-HA 及用透明质酸酶孵育 2 h 后的 DOX/HMCuS-HA 样品的乙醇溶液滴到铜网上制样, 待溶剂挥发完全后置于透射电子显微镜下观察并记录图片。

氮气吸附脱附实验 将适量 HMCuS、DOX/HMCuS 和 DOX/HMCuS-HA 样品分别置于样品管中, 150 °C 脱气干燥 4 h, 测定纳米粒的孔径和比表面积。

泄漏率实验 分别取 DOX/HMCuS 和 DOX/HMCuS-HA 样品置于含 10% 胎牛血清的 PBS (pH 7.4) 中, 在 37 °C 环境下保存, 于第 0、2、4、6、8 和 10 天连续监测各组样品的 DOX 泄漏率。

粒径分布与 zeta 电位测定 配置一定浓度的 DOX/HMCuS-HA 溶液, 使用激光粒度分析仪测定粒径分布与 zeta 电位。

HMCuS-HA 的光热转换性质考察 配置不同浓度的 HMCuS 及 HMCuS-HA 分散液, 在 808 nm 激光仪的不同功率下照射 8 min, 使用红外热成像仪记录各组样品温度随时间的变化。

光动力学实验

电子自旋共振 (ESR) 波谱法 取 2 mg·mL⁻¹ HMCuS 纳米粒进行不同时间的 NIR 照射 (808 nm, 2 W·cm⁻²), 之后置于 ESR 谐振腔内, 待温度平衡后, 记录 ESR 图谱。

化学探针紫外-可见分光光度计法 采用 MB 作为羟自由基捕捉剂, MB 本身含有发色团具有紫外吸收, 但当遇到·OH 后反应生成稳定的无色加合产物

(MB-OH), 故可通过紫外-分光光度法来检测·OH 的产生。取 1 mg·mL⁻¹ HMCuS 纳米粒进行不同时间的 NIR 照射 (808 nm, 2 W·cm⁻²), 之后离心取上清后加入 MB, 使得 MB 浓度调整为 20 μmol·L⁻¹, 于紫外-可见分光光度计下进行紫外可见吸收光谱扫描。

DOX/HMCuS-HA 体外释药实验 将含 1.5 mg DOX 和透明质酸酶 (150 U·mL⁻¹) 的 DOX/HMCuS-HA 样品装入透析袋 (MWCO 3 500) 内, 把上述透析袋分别置于 100 mL 含/不含透明质酸酶 (150 U·mL⁻¹) 的 PBS 溶液 (pH 7.4/4.5) 中, 放置摇床上进行释药实验 (37 °C, 100 r·min⁻¹)。该实验设置激光组, 使用 808 nm 激光 (2 W·cm⁻²) 照射 10 min。每隔 2 h 后取 1 mL 样品并补加相同体积的释药介质。按载药量测定的方法测定释药浓度, 对释药数据进行拟合并探讨释药机制。

结果

1 HMCuS 纳米粒的合成与表征

本研究采用置换法合成了 HMCuS 纳米粒, 图 1a 的透射电镜图观察到其中空介孔球状结构, 纳米粒大小均一, 分散良好, 粒径约为 100 nm 左右。HMCuS 的元素分析图如图 1b 所示, 检测到样品中主要含有 Cu 和 S 元素, 为 HMCuS 的形成提供依据。图 1c 为 HMCuS 的 X-射线衍射图谱, 2θ 在 29.49°、31.98° 和 48.14° 时的衍射峰所对应的晶面分别是 102、103 和 110, 与铜蓝相硫化铜的晶格面一致 (Joint Committee on Powder Diffraction Standards: No. 06-0464)^[4]。

2 DOX/HMCuS-HA 递药系统的制备与表征

采用紫外-可见分光光度计对制剂进行全波长扫描, 如图 2a 所示。HMCuS 在近红外区 (λ = 700~1 000 nm) 有较强的吸收, 该结果与文献报道一致^[8,9]。DOX/HMCuS-HA 则出现了 HA 的末端吸收及 DOX 在 254 和 480 nm 处的特征吸收峰。在投料比 (DOX:HMCuS) 为 2:1 时, DOX/HMCuS 中载药量为 33.6%。由于 HMCuS 具有的中空空腔和孔道结构均可荷载客体物质, 比表面积大, 故载药能力强。红外光谱表征如图 2b 所示, 结果表明, HMCuS 与巯基乙胺反应后在 1 640 cm⁻¹ 处出现 -NH₂ 的特征峰, 之后对纳米粒进行 HA 共价修饰, 于 ~1 650 cm⁻¹ 出现 -NH-CO- 的特征峰, 证实了 HA 已成功修饰到 HMCuS 骨架上。

图 3a 为各制剂的透射电镜图。与 HMCuS [图 3a (1)] 相比, DOX/HMCuS 的中空空腔中出现不均匀的团聚物, 推测为所负载的药物分子 DOX [图 3a (2)]。观察到 DOX/HMCuS-HA 表面被一层紧密的层状物质所包裹, 推测 HA 可作为“盖帽剂”修饰在纳米粒表面 [图

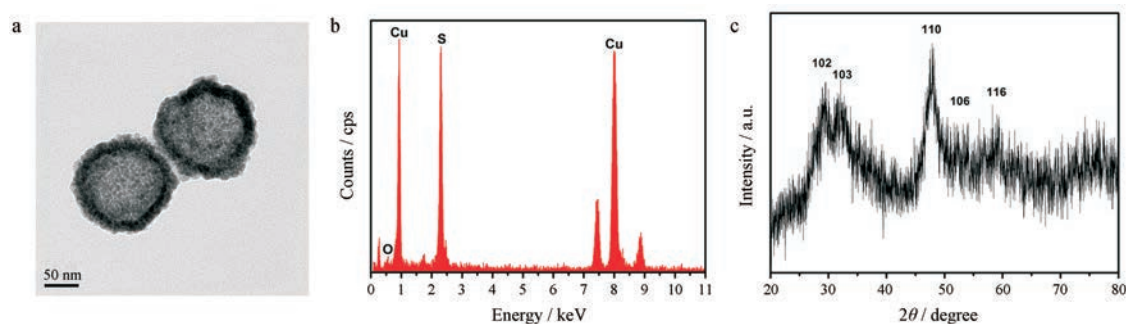


Figure 1 Characterization of hollow mesoporous copper sulfide (HMCuS). a: TEM spectrum of HMCuS; b: Energy spectrum of HMCuS; c: XRD spectrum of HMCuS

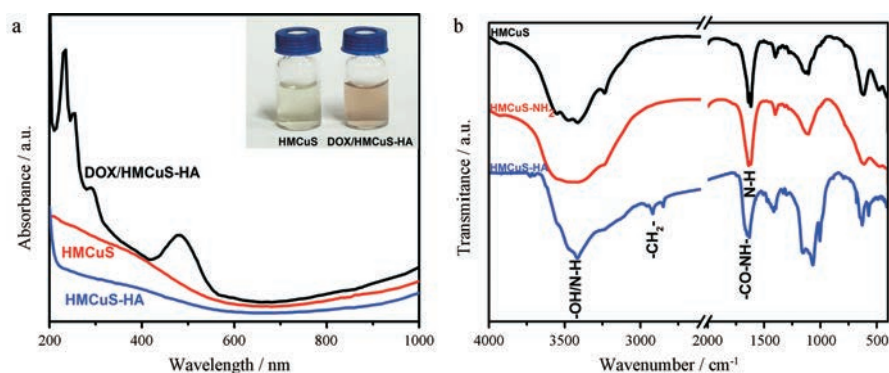


Figure 2 Characterization of samples. a: UV spectrum; b: IR spectrum. DOX: Doxorubicin; HA: Hyaluronic acid

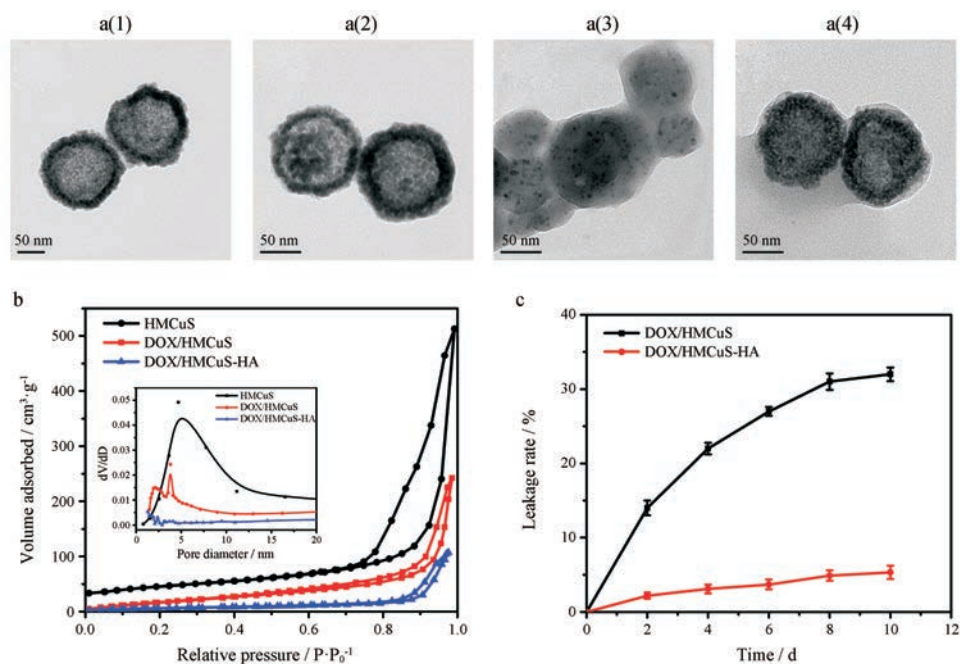


Figure 3 Characterization of DOX/HMCuS-HA. a: TEM spectrum: (1) HMCuS nanocarrier, (2) DOX/HMCuS, (3) DOX/HMCuS-HA, (4) DOX/HMCuS-HA after hyaluronic acid enzyme incubated 2 h; b: Nitrogen adsorption and desorption curve and pore size distribution; c: Leakage rate of DOX/HMCuS and DOX/HMCuS-HA in 10 d ($n = 3$)

3a(3)]. 当被透明质酸酶孵育 2 h 后, DOX/HMCuS-HA 表面的 HA 逐渐被酶降解, 显露出 HMCuS 载体的中空腔结构 [图 3a(4)]. 通过氮气吸附-脱附实验考察介

孔材料的比表面积和孔径分布情况。如图 3b 所示, HMCuS 的氮气吸附脱附曲线属于经典的第 V 类等温线, 具有较高的比表面积 ($155.8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), 平均孔径为

5.1 nm, 允许小分子药物通过介孔通道负载入载体内部。而负载 DOX 和修饰 HA 后, 比表面积分别下降到 78.3 和 23.6 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 。同时, 孔径也依次降到 3.8 和 ~ 0 nm 左右。该氮气吸附脱附曲线结果表明 HA 的修饰起到封堵孔洞的效果。为进一步验证 HA 的盖帽效果, 分别对 DOX/HMCuS 和 DOX/HMCuS-HA 进行了泄漏率实验考察, 如图 3c 所示。两种制剂在体内模拟环境 (10% 胎牛血清的 PBS 溶液, pH 7.4, 37 $^{\circ}\text{C}$) 下放置 10 天后, DOX/HMCuS 和 DOX/HMCuS-HA 的泄漏药物量分别为 42.6% 和 8.2%, 表明 HA 作为“盖帽剂”可有效降低药物泄漏率。

DOX/HMCuS-HA 等样品的粒径分布和 zeta 电位如图 4 所示, HMCuS、DOX/HMCuS 和 DOX/HMCuS-HA 的平均粒径分别为 102 ± 2.3 、 104 ± 3.6 和 113.8 ± 6.9 nm; 平均 zeta 电位分别为 -11.5 ± 0.6 、 26.8 ± 3.2 和 18.4 ± 2.8 mV, 证明 DOX/HMCuS-HA 制剂的分散性和稳定性较好, 与透射电镜结果一致, 并且更易被细胞膜表面呈负电性的癌细胞所摄取。

3 HMCuS-HA 的光热转换性质考察

HMCuS 和 HMCuS-HA 在 808 nm 激光下的光热转换效应如图 5 所示, 其产热效能具有 CuS 浓度、激光照射时间和功率依赖性, 且 HA 的修饰并未影响 HMCuS 的产热效果。其中 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ HMCuS 在 808 nm 激光 ($2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) 下照射 8 min 可升高温度 51 $^{\circ}\text{C}$ 。因此, HMCuS-HA 可用于肿瘤光热治疗。

4 光动力学实验

本研究采用 NIR 照射, 然后分别用 ESR 波谱法和化学探针紫外-可见分光光度计法进行活性氧的检测。其中, ESR 法使用 5,5-二甲基-1-吡咯啉-*N*-氧化物和 2,2,6,6-四甲基哌啶作为自旋捕获剂, 检测二者分别与 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ 加合物的 ESR 信号。图 6a 表明, 在无 NIR 照射时未发现 ESR 信号。而在 NIR 照射下, ESR 图谱中出现了 $\cdot\text{OH}$ 加合物信号, 由 1:2:2:1 的四重特征峰组成, 且特征峰强度随着 NIR 照射时间延长而增强。在实验过程中, ESR 波谱并没有检测到 $^1\text{O}_2$ 加合物的信号。此结果说明 HMCuS 在 NIR 照射下可以产生活性

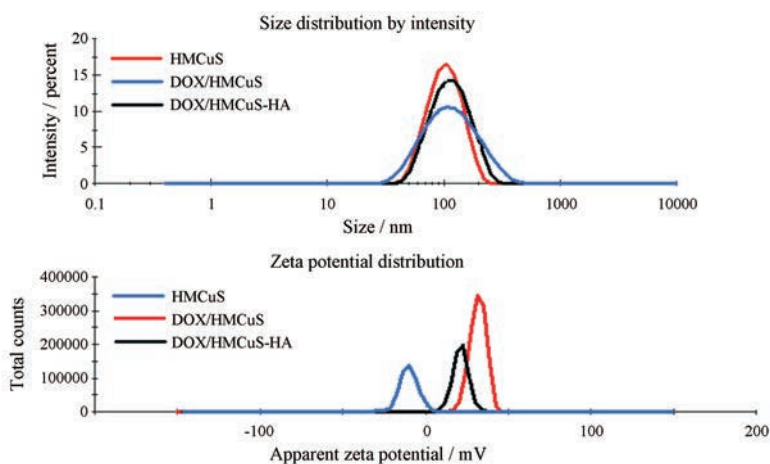


Figure 4 The size distribution and zeta potential of samples

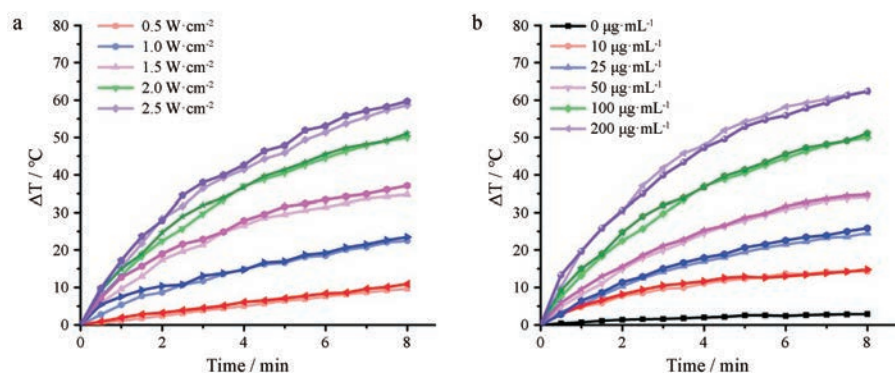


Figure 5 Photothermal conversion of HMCuS-HA. a: The temperature variation diagram of HMCuS and HMCuS-HA (containing $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ HMCuS) irradiated by 808 nm laser with different power; b: Temperature variation diagram of HMCuS and HMCuS-HA at different concentrations irradiated by 808 nm laser ($2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$). Light and dark lines of the same color represent the heating curves of HMCuS and HMCuS-HA, respectively

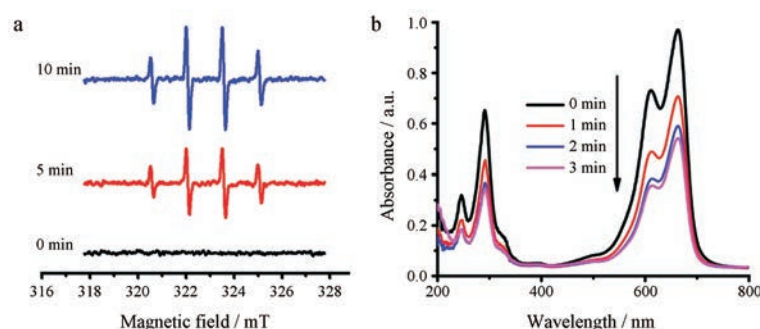


Figure 6 Electron spin resonance (ESR) pattern of HMCuS at different time after near infrared (NIR) irradiation (808 nm, $2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) (a). Degradation of methylene blue by HMCuS-HA at different time after NIR irradiation (808 nm, $2 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) (b)

氧,且活性氧种类主要是 $\cdot\text{OH}$ 。

另外,使用MB作为羟自由基捕捉剂,MB本身含有发色团具有紫外吸收,但当遇到 $\cdot\text{OH}$ 后反应生成稳定的无色加合产物(MB-OH),故可通过紫外-分光光度法来检测 $\cdot\text{OH}$ 的产生。图6b为HMCuS处理后的MB紫外可见吸收光谱。随NIR照射时间延长,MB在290和680 nm处的特征吸收峰强度逐渐下降,说明HMCuS在NIR照射下产生 $\cdot\text{OH}$ 。因此,HMCuS可作为一种优良的光敏剂介导光动力学治疗。

5 DOX/HMCuS-HA 体外释药实验

DOX/HMCuS-HA 的体外释药结果如图7所示。释药实验进行14 h后,在无透明质酸酶存在时,DOX/HMCuS-HA 在pH 4.5 PBS溶液中较pH 7.4 PBS溶液的释药率仅高4.4%,激光组较非激光组释药率高11.1%;而在有透明质酸酶存在时,DOX/HMCuS-HA 在pH 4.5 PBS溶液中较pH 7.4 PBS溶液的释药率高26.6%,激光组较非激光组释药率高39.7%。结果说明,HA的修饰具有盖帽效应,当透明质酸酶将HMCuS表面修饰的HA降解后,打开中空介孔材料的孔洞,释放药物,达到多刺激响应型门控释药的目的。由此可见,DOX/HMCuS-HA 具有透明质酸酶、pH值和NIR敏

感释药特性。

讨论

目前化疗药物与纳米递药系统的联合已成为肿瘤研究的热点。本研究成功构建了基于中空介孔硫化铜的多功能纳米递药系统DOX/HMCuS-HA。HMCuS作为空穴型半导体通过局部表面等离子共振效应(LSPR)在NIR区有很强的光热转换效应。在近红外光下HMCuS泄漏的铜离子可与肿瘤周围环境的缓冲液基质通过Haber-Weiss循环发生氧化还原反应产生 $\cdot\text{OH}$ 进行光动力学治疗。

HA作为靶向分子和“盖帽剂”,阻止载体负载的化疗药物在转运途中的泄漏,有利于降低毒副作用。pH值敏感释药特性是由于酸性环境使得DOX结构中的氨基发生质子化导致氢键断裂,促进药物释放^[20];在NIR照射下,HMCuS产热从而降低了周围介质黏度,促进药物扩散。释药结果发现,若没有透明质酸酶响应,pH值和NIR敏感都不能促进DOX的释放,即HA只有经肿瘤细胞内的透明质酸酶降解后,包封的药物才得以释放,而酸性pH值和NIR光刺激则使得DOX的释放更有效^[21]。

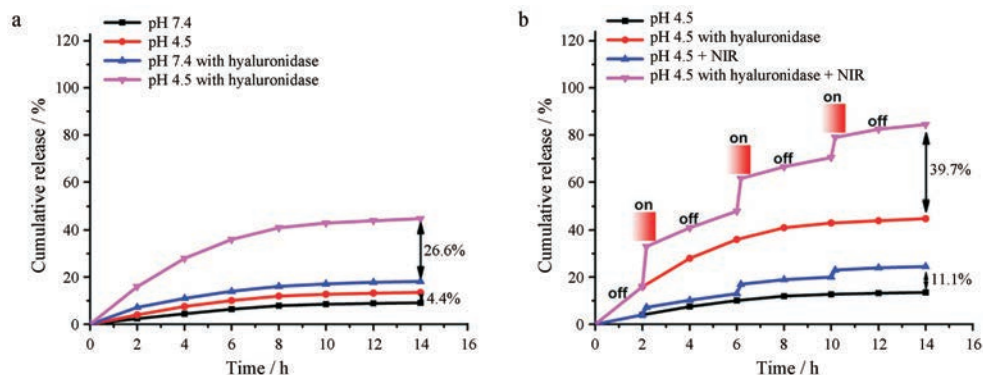


Figure 7 Drug release curves of DOX/HMCuS-HA in the presence of hyaluronidase at different pH values (a). DOX/HMCuS-HA drug release curve under the presence of hyaluronidase and laser irradiation at 808 nm (b)

综上所述, 本研究得到的透明质酸修饰的中空介孔硫化铜纳米递药体系 (DOX/HMCuS-HA) 具有 NIR 照射下同时产热和活性氧性质, 有望实现热疗-光动力学治疗-化疗的协同治疗, 为肿瘤高效治疗带来了福音。

References

- [1] Chen WQ. Cancer statistics: updated cancer burden in China [J]. *Chin J Cancer Res*, 2015, 27: 1
- [2] Overchuk M, Zheng G. Overcoming obstacles in the tumor microenvironment: recent advancements in nanoparticle delivery for cancer theranostics [J]. *Biomaterials*, 2018, 156: 217-237.
- [3] Awasthi R, Roseblade A, Hansbro PM, et al. Nanoparticles in cancer treatment: opportunities and obstacles [J]. *Curr Drug Targets*, 2018, 19: 1696-1709.
- [4] Wang JL, Kaplan JA, Colson YL, et al. Mechanoresponsive materials for drug delivery: harnessing forces for controlled release [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 108: 68-82.
- [5] Pan QB, Zhang J, Li X, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of phospholipid-coated silver-graphene quantum dot multifunctional nanoparticles [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 366-372.
- [6] Dissanayake S, Denny WA, Gamage S, et al. Recent developments in anticancer drug delivery using cell penetrating and tumor targeting peptides [J]. *J Control Release*, 2017, 250: 62-76.
- [7] Zong L, Yuan AR, Zhu Y, et al. Preparation of thermoresponsive micelles loaded with indocyanine green and doxorubicin for combined therapy in MCF-7 cells [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1169-1176.
- [8] Miao YQ, He SF, Liang JY, et al. Preliminary study of lipid bilayer-coated calcium phosphate nanoparticles as a drug carrier for antitumor drug [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 977-984.
- [9] Bu XY, Zhou D, Li J, et al. Copper sulfide self-assembly architectures with improved photothermal performance [J]. *Langmuir*, 2014, 30: 1416-1423.
- [10] Guo LR, Yan DD, Yang DF, et al. Combinatorial photothermal and immuno cancer therapy using chitosan-coated hollow copper sulfide nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2014, 8: 5670-5681.
- [11] Dong K, Liu Z, Li ZH, et al. Hydrophobic anticancer drug delivery by a 980 nm laser-driven photothermal vehicle for efficient synergistic therapy of cancer cells *in vivo* [J]. *Adv Mater*, 2013, 25: 4452-4458.
- [12] Bai J, Liu YW, Jiang XE. Multifunctional PEG-GO/CuS nanocomposites for near-infrared chemo-photothermal therapy [J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 5805-5813.
- [13] Wang SH, Riedinger A, Li HB, et al. Plasmonic copper sulfide nanocrystals exhibiting near-infrared photothermal and photodynamic therapeutic effects [J]. *ACS Nano*, 2015, 9: 1788-1800.
- [14] Shi H, Sun YD, Yan RQ, et al. Magnetic semiconductor Gd-doping CuS nanoparticles as activatable nanoprobe for bimodal imaging and targeted photothermal therapy of gastric tumors [J]. *Nano Lett*, 2019, 19: 937-947.
- [15] Tian QW, Hu JQ, Zhu YH, et al. Sub-10 nm Fe₃O₄@Cu₂-xS core-shell nanoparticles for dual-modal imaging and photothermal therapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 8571-8577.
- [16] Qiu LP, Long MM, Chen DW. Hyaluronic acid-based carriers for tumor targeted delivery system [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2013, 48: 1376-1382.
- [17] Choi KY, Saravanakumar G, Park JH, et al. Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: interfacial interactions with proteins in cancer [J]. *Colloids Sur B*, 2012, 99: 82-94.
- [18] Hou L, Zhang HJ, Wang YT, et al. Hyaluronic acid-functionalized single-walled carbon nanotubes as tumor-targeting MRI contrast agent [J]. *Int J Nanomed*, 2015, 10: 4507-4520.
- [19] Hou L, Feng QH, Wang YT, et al. Multifunctional nanosheets based on hyaluronic acid modified graphene oxide for tumor-targeting chemophotothermal therapy [J]. *J Nanopart Res*, 2015, 17: 162.
- [20] Jia L, Qiao MX, Hu HY, et al. The characteristics of temperature/pH sensitive block copolymer micelles *in vitro* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2011, 46: 839-844.
- [21] Wang ZZ, Chen ZW, Liu Z, et al. A multi-stimuli responsive gold nanocage-hyaluronic platform for targeted photothermal and chemotherapy [J]. *Biomaterials*, 2014, 35: 9678-9688.