生物型金属有机骨架 MOF-79 的合成、表征及载槲皮素药物性能的研究

陈 进[1]，林令琪[1]，钱 昆[2]，赵 亮[1]*
（1. 锦州医科大学药学院，辽宁锦州 121000；2. 锦州医科大学公共基础学院，辽宁锦州 121000）

摘要：该研究通过搅拌加热的方法首次成功制备了以腺嘌呤为有机配体、金属钛为核心的生物型金属有机骨架（MOF），Ti-MOF-79，并以槲皮素（**1**）为药物模型对 Ti-MOF-79 的载药、释药性能进行研究。通过扫描电镜（SEM）、X 射线衍射（XRD）、差示扫描量热（DSC）、X 射线光电子能谱（XPS）、红外光谱（IR）、紫外光谱（UV）和细胞毒性试验等方法对该材料和载药复合物进行表征，并计算了载药量及累积释放率。结果表明 Ti-MOF-79 是一种规则的圆柱体形晶体，具有多孔结构，载药量为（28.83±8.35）%，在体外具有一定的缓释作用，且无明显的细胞毒性，提示 MOF 有望成为新型载体材料。

关键词：生物型金属有机骨架；槲皮素；药物递送；药物载体
中图分类号：R945 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2023)01-0075-10
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.01.009

Synthesis and Characterization of Biological Metal-organic Frameworks and Study on Its Quercetin-loading Properties

CHEN Jin[1], LIN Lingqi[1], QIAN Kun[2], ZHAO Liang[1]*
(*1. College of Pharmacy, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000;*
2. College of Public Foundation, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000)

ABSTRACT: The biological metal-organic framework (MOF) Ti-MOF-79 with adenine as an organic ligand and Ti as a metal core was synthesized under hydrothermal conditions. Quercetin (**1**) was used as a drug model to investigate the drug loading and release performance of Ti-MOF-79. The material and the drug-loaded complexes were characterized through transmission electron microscopy (SEM), X-ray diffractometry (XRD), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), infrared spectroscopy (IR), ultraviolet spectroscopy (UV) and cytotoxicity test, and the drug loading and cumulative release rates were calculated. The results showed that Ti-MOF-79 was a regular long cylindrical crystal with porous structure. The results of *in vitro* experiments showed that the complexes with drug loading of (28.83±8.35) % had a sustained-release profile and had no obvious cytotoxicity, which indicated that MOF could become a novel carrier material.

Key Words: biological metal-organic framework; quercetin; drug delivery; drug carrier

槲皮素（quercetin，**1**）是一种黄酮醇类、亲脂性化合物，可阻止肿瘤细胞增殖、促进细胞凋亡，在肿瘤治疗方面具有突出效果[1−2]，然而 **1** 化学稳定性差，在中性和碱性溶液中易氧化失活[3]，应用严重受限。越来越多的药物递送系统被构建以增加 **1** 的稳定性，如脂质体[4]、二氧化硅纳米球[5]等。然而，这些药物递送系统有载药量相对较低、药物易泄露等缺点。

金属有机骨架（metal-organic framework，MOF）是由金属与有机配体通过自组装杂化形成的一类具有周期性网状结构的多孔立体材料，具有高比表面积、高孔隙率以及孔道可调性等优势，在吸

收稿日期：2022-06-14
基金项目：辽宁省教育厅课题(JYTJCZR2020067)
作者简介：陈 进(1997—)，男，硕士，从事新型材料合成以及新型药物剂型应用的研究。
通信作者：赵 亮(1979—)，男，教授，从事纳米剂型的研究以及应用。
E-mail：liangzhao79@163.com

附、催化、检测等方面具有广阔的应用前景[6—10]。由于 MOF 可实现较高的载药量，且生物可降解，近年来在药物递送领域的应用愈加广泛[11—13]，尤其适用于一些不稳定的药物。WEI 等[14] 成功将 ZIF-8 和硫化铜纳米粒子复合，并报道该复合物可负载的 **1** 量约为 24%。但在 MOF 的合成过程中需要使用对人体有害的有机溶剂作为配体，使其在药物递送领域的应用受到了一定限制。因此，选用人体可接受的配体来合成生物相容性较好的生物型金属有机骨架（bio-MOF）引起了研究人员的浓厚兴趣。

生物型金属有机骨架是一种较为特殊的 MOF，由金属元素和氨基酸、碱基或糖等充当的有机配体组成。在合成过程中不需要使用有机溶剂，因而具有更好的生物相容性。文献[15—16] 报道将腺嘌呤（adenine）作为生物分子配体，以锌离子为金属中心，首次合成了 bio-MOF-1。腺嘌呤作为一种刚性配体，能与金属离子结合形成稳定的金属有机骨架结构[17]。且腺嘌呤能有效地预防各种原因引起的白细胞减少症，抑制肿瘤细胞的增殖，适用于肿瘤治疗[18]。ROSI 等[19] 在 2004 年首次成功合成了以镉为金属中心的 MOF-79，并对其连接方式进行了说明，但并未进行药物载体的相关研究。

本研究选用腺嘌呤为配体与金属钛合成了低毒的 Ti-MOF-79，并用其装载 **1**，成功制备了 **1**@Ti-MOF-79。对 Ti-MOF-79 作为药物载体时的结构以及形貌进行表征，并对 **1** 的装载、释放，以及装载前后 **1** 的稳定性等进行考察[18,20—21]。通过对人脐静脉内皮细胞（HUVCEs 细胞）和黑色素瘤细胞的细胞活性试验探究了 **1**@Ti-MOF-79 的细胞毒性以及抗肿瘤作用，以期为开发 **1**@Ti-MOF-79 口服缓释剂型提供帮助。

1　仪器与试药

Tensor Ⅱ型傅里叶变换红外光谱仪（德国 Bruker 光谱仪器公司）；UV-2550 型紫外分光光度仪（日本岛津公司）；TDM-10 型 X 射线衍射仪（丹东通达科技有限公司）；HCR-4 型差热分析仪（北京恒久实验设备有限公司）；2XZ-2 型冷冻干燥机（北京博医康实验仪器有限公司）；AXIS Ultra DLD 型 X 射线光电子能谱仪（XPS，英国 Kratos 公司）；RC-8 型溶出度测试仪（天津市国铭医药设备有限公司）；680 型全自动酶标仪（美国 Bio-Rad 公司）；定性滤纸（杭州富阳北木浆纸有限公司）。

二氧化钛（沈阳市荣兴化工厂，纯度≥ 98%，批号 880701）；腺嘌呤（上海旭硕生物科技有限公司，纯度≥ 99.5%，批号 CA1221-100）；胞嘧啶（纯度≥ 98%，批号 CV91215）、胸腺嘧啶（纯度 99%，批号 CV94510）均购自上海思域化工科技有限公司；尿嘧啶（纯度 99%，批号 66-22-8）、**1**（纯度≥ 97%）均购自上海麦克林生化科技有限公司；草酸二水合物（天津市永大化学试剂有限公司，批号 20200905）；Tween-80（天津市大茂化学试剂厂，批号 20170517）；无水碳酸钾（天津市风船化学试剂科技有限公司）；磷酸氢二钠、磷酸二氢钠（天津市北辰区方正试剂厂）；胰蛋白酶、DMEM 培养基、F-12 培养基（美国 Gibco 公司）；其他试剂均为色谱纯或分析纯。

HUVCEs 细胞购自美国典型培养物保藏中心（ATCC）；黑色素瘤细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

雄性大鼠［SPF 级，体质量 200 g，购自辽宁长生生物技术有限公司，许可证号 SCXK（辽 2020-0001），质量检测单位：苏州西山生物技术有限公司，实验单位许可证编号：SYXK（辽）2019-0007］。

2　方法与结果

2.1　溶液配制

草酸钾溶液：取草酸二水合物 2.91 g（0.014 mol），在室温下搅拌溶解于纯水 60 mL 中，加热至 80 ℃溶解，加入无水碳酸钾，直至溶液呈碱性（pH 8），冷却至室温后过滤，室温避光保存。

磷酸盐缓冲液（PBS）：取磷酸氢二钠 7.16 g、磷酸二氢钠 3.12 g，分别置 200 mL 烧杯中，各加入超纯水 100 mL 配制成浓度为 0.2 mol/L 的母液，随后将 2 种母液按比例混合，定容至 100 mL 备用。根据所需浓度对 0.2 mol/L 的 PBS 进行稀释。

2.2　Ti-MOF-79 的合成与表征

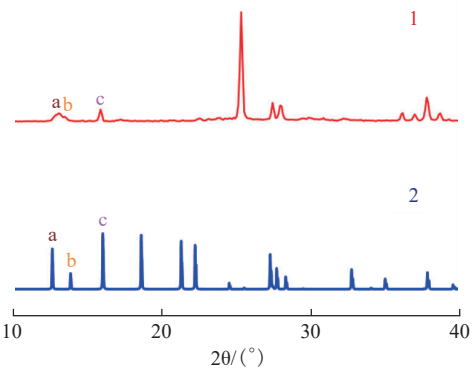
2.2.1　Ti-MOF-79 合成

精密称取二氧化钛 0.251 7 g（0.032 mol），加入腺嘌呤 8.6 g（0.064 mol）、纯水 150 mL 和草酸

钾溶液 615 μL，置 70 ℃油浴中搅拌加热 15 h。将所得混合物用纯水、无水乙醇分别洗涤，离心（1 112×*g*，10 min）3 次，室温干燥备用。

2.2.2 X 射线衍射（XRD）分析

将“**2.2.1**”项下得到的干燥样品粉末置 XRD 样品槽上，使用 X 射线衍射仪，在干燥空气中对样品进行检测。测试条件：扫描速度 0.01 (°)/min；电流 40 mA；电压 40 kV；2θ 宽度 4° ～ 40°。所得的 XRD 图谱与文献[22—23]中拟合谱图的前 3 个特征衍射峰（a、b、c）重叠较好（图 1），故确定所测产物为 MOF-79。



1—Ti-MOF-79 的实际图谱；2—Ti-MOF-79 的拟合图谱。

图 1 XRD 图谱

Fig.1 XRD Patterns

2.2.3 Ti-MOF-79 合成条件优化

为探究不同碱基、配方对合成产物的影响，设置了如表 1 所示的合成条件，其他条件同“**2.2.1**”项，分别合成 Ti-MOF-79，并按“**2.2.2**”项下方法进行 XRD 分析，结果如图 2 所示。

只有以腺嘌呤作为配体，且二氧化钛、腺嘌呤与草酸钾的物质的量之比为 1 ∶ 2 ∶ 1 时可观察到 Ti-MOF-79 特征峰，其他合成条件制得产物的 XRD 谱图中均出现了不规律的毛刺状宽峰，还有些出现了没有特征峰的情况（图 2），表明可能存在未反应的原料或是未发生反应。故选择二氧化钛、腺嘌呤与草酸钾物质的量比例为 1 ∶ 2 ∶ 1 进行后续的材料合成。

表 1 碱基及反应物比例对合成产物的影响

Tab.1 Influences of Base and Reactant Ratio on Synthetic Products

二氧化钛、碱基与草酸钾的物质的量比例	碱基种类			
	胞嘧啶	腺嘌呤	胸腺嘧啶	尿嘧啶
1∶1∶1	无定形	无定形	无定形	无定形
1∶2∶1	无定形	Ti-MOF-79	无定形	无定形
1∶0.5∶1	无定形	无定形	无定形	无定形

在 Ti-MOF-79 的合成中，通常采用 70 或 110 ℃的合成温度[24—25]，因此本试验中也探讨了这 2 种温度的影响。结果（图 3）表明，当以腺嘌呤为配体，二氧化钛、腺嘌呤与草酸钾物质的量比例为 1 ∶ 2 ∶ 1 时，温度不会影响 Ti-MOF-79 的合成。

二氧化钛、腺嘌呤与草酸钾物质的量比例采用 1 ∶ 2 ∶ 1，于 70 ℃合成 Ti-MOF-79，在加热搅拌开始时计时，分别于 5、10、15、20、25、30 和 35 h 时取样 4 mL，通过 XRD 分析来判断材料的具体合成情况。根据 XRD 图谱（图 4）显示，20 h 时 Ti-MOF-79 已基本形成。

综上所述，确定 Ti-MOF-79 的优化合成条件为二氧化钛、腺嘌呤与草酸钾的物质的量比例为 1 ∶ 2 ∶ 1，70 ℃下反应 20 h。

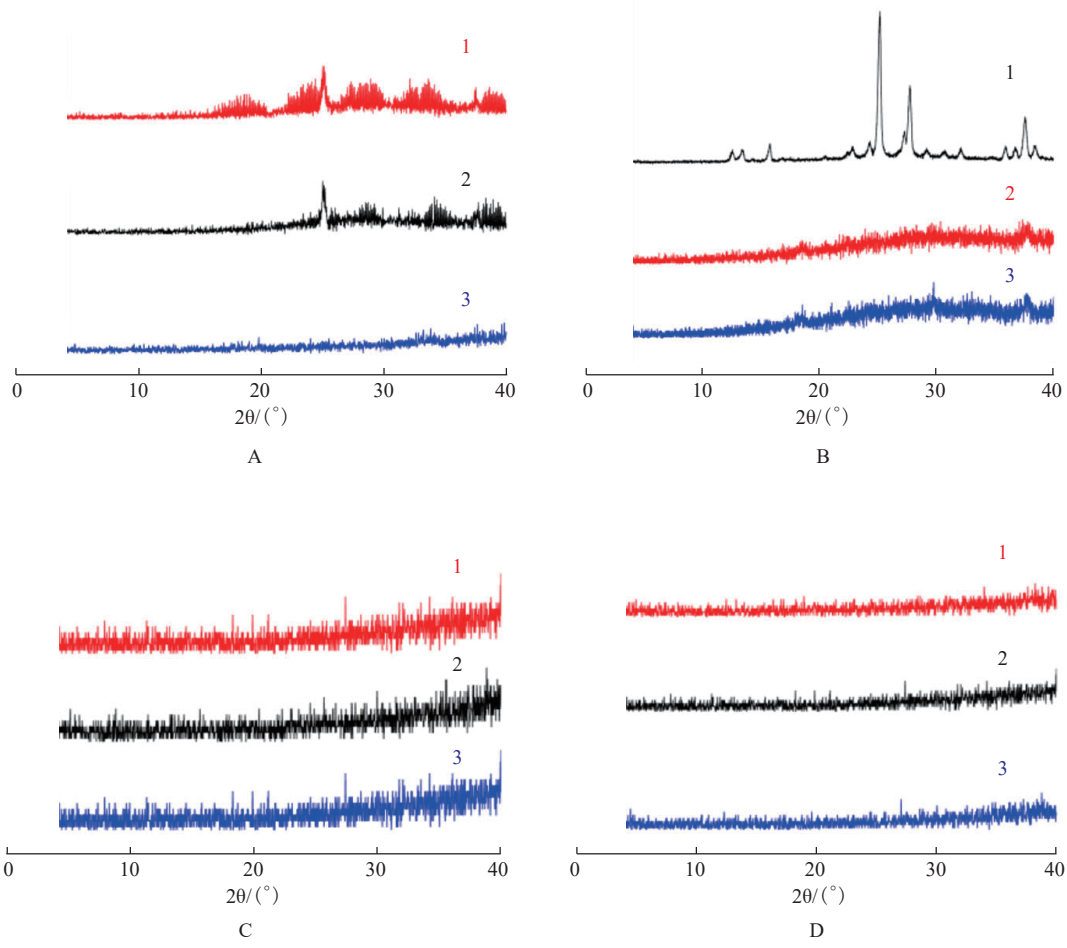
2.3 **1**@Ti-MOF-79 的制备与表征

2.3.1 **1**@Ti-MOF-79 的制备

采用浸渍法制备 **1**@Ti-MOF-79。称取 **1** 10 mg，溶于少量 Tween-80 中，用纯水定容至 10 mL。取按“**2.2.3**”项下优化条件合成的 Ti-MOF-79 10 mg，加至 **1** 水溶液 10 mL 中，室温下磁力搅拌 12 h。得到的混合物溶液离心（2 500×*g*）30 min，所得沉淀用纯水洗涤 3 次后减压冷冻干燥 12 h，即得 **1**@Ti-MOF-79 复合物。

2.3.2 XPS 分析

用 XPS 法分析 Ti-MOF-79 以及 **1**@Ti-MOF-79。将铝箔剪成 1 cm×1 cm 的小片，中间粘贴 3 mm×3 mm 双面胶（美国 3M 公司，商品名 Scotch），使大量样品覆盖于胶上（样品合适的话可以不用双面胶），盖上干净的同规格无双面胶铝箔，在压片机（压力为 3.7×10^4 Pa）中压片后裁剪成 3 mm×3 mm 的大小，固定到测试台，60 ℃减压干燥 0.5 ～ 1 h，

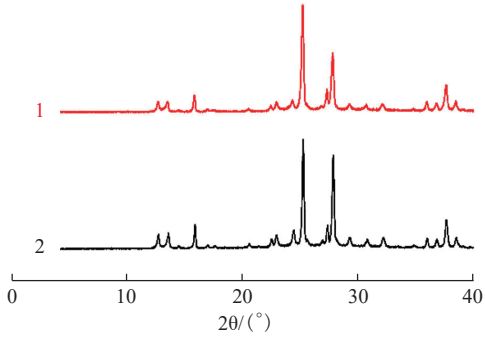


A—胞嘧啶；B—腺嘌呤；C—胸腺嘧啶；D—尿嘧啶。

1—1 ∶ 2 ∶ 1；2—1 ∶ 1 ∶ 1；3—1 ∶ 0.5 ∶ 1。

图 2　不同碱基照 3 种比例反应所得合成产物的 XRD 图谱

Fig.2　XRD Patterns of Synthetic Products Reacted with Different Bases at Three Ratios



1—110 ℃；2—70 ℃。

图 3　两种温度下所得 Ti-MOF-79 的 XRD 图谱

Fig.3　XRD Patterns of Ti-MOF-79 Synthesized at Two Temperatures

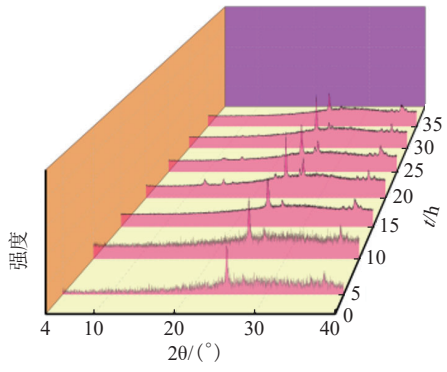


图 4　合成过程中不同时间点所得 Ti-MOF-79 的 XRD 图谱

Fig.4　XRD Patterns of the Obtained Ti-MOF-79 at Different Time Points in the Synthesis Process

送入仪器腔体抽真空待测。

结果如图 5 所示，可知 Ti-MOF-79 的基本组成元素为 Ti、N 和 C。载药后 464.6 eV 处的 Ti 峰消失，表明 Ti 元素的价态发生变化，可能存在相互作用，但 C、N 峰并未出现显著差异。这表明 Ti-MOF-79 的元素价态在载药前后相对稳定，也间接说明 Ti-MOF-79 骨架载药前后的稳定性较好。

2.3.3 扫描电镜（SEM）分析

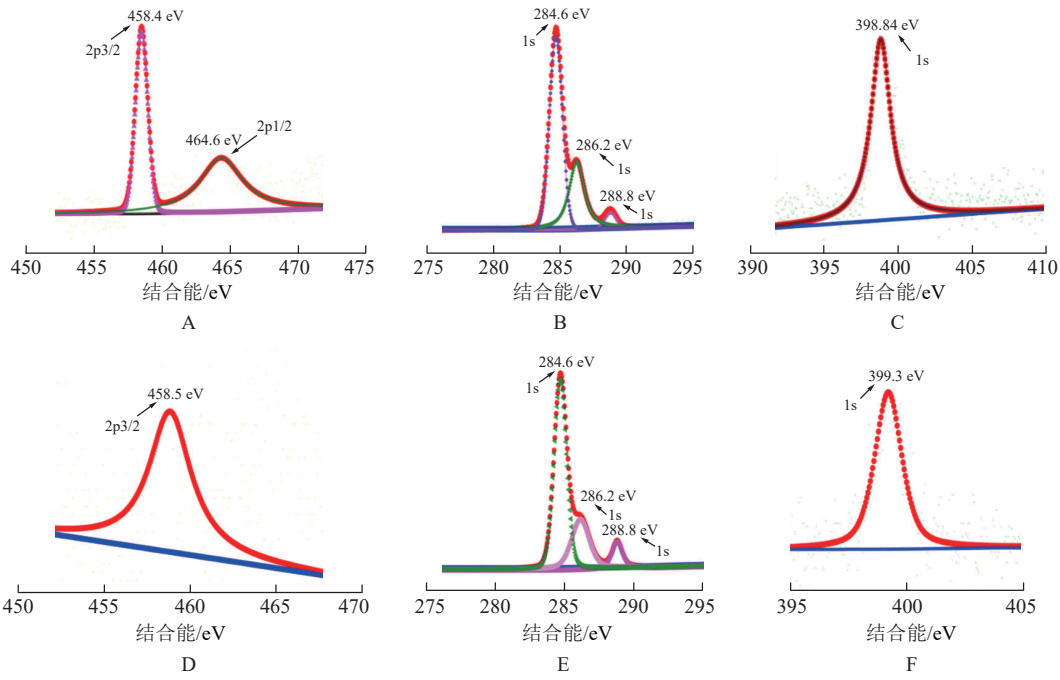
将分散好的 Ti-MOF-79 以及 **1**@Ti-MOF-79 分别滴于铜片上，干燥后将载有样品的铜片粘在样品座的导电胶带上（对于大颗粒样品，可直接将样品粘在导电胶带上）。喷金、减压后检测。SEM 照片如图 6 所示。Ti-MOF-79 是有规则的长圆柱体，从图 6B 中可见 **1** 黏附在 Ti-MOF-79 的表面，侧面证明 **1**@Ti-MOF-79 已被成功制成。

2.3.4 XRD 分析

按“**2.2.2**”项下方法对 **1**@Ti-MOF-79、Ti-MOF-79、**1** 以及 **1** 与 Ti-MOF-79（质量比 1 ∶ 1）的物理混合物进行 XRD 分析。结果如图 7A 所示。与物理混合物不同，复合物中 Ti-MOF-79 的主峰发生了微小的偏移，且 Ti-MOF-79 原本在 14° 左右的峰晶化度稍降低但主体结构保持完整。此外，复合物同时具备了 **1** 的特征峰形，说明 **1** 被成功装载于 Ti-MOF-79 中。

2.3.5 红外光谱分析

取腺嘌呤、**1**、Ti-MOF-79 以及 **1**@Ti-MOF-79 各 5 mg，分别置玛瑙研钵中，加入 KBr 粉末 600 mg，研磨混匀，压片后检测。以 KBr 空白片为参比，装入红外样品光路，进行扫描，结果如图 7B 所示。腺嘌呤的特征峰分别为 C=N（1 673 cm^{-1}）、N-H（1 605 cm^{-1}），以及 C-N（1 023 cm^{-1}）的振动峰。**1** 的特征峰分别为 O-H 伸缩振动吸收峰（3 385 cm^{-1}）、C=O 伸缩振动吸收峰（1 685 cm^{-1}）、苯环骨架伸缩振动吸收峰（1 513、1 615 cm^{-1}），以及 C-O、C-C 和 C-C-O 的伸缩振动吸收峰（1 093 cm^{-1}），与文献[26]报道一致。**1**@Ti-MOF-79 的红外图谱中同时



A—载药前 Ti 元素分析；B—载药前 C 元素分析；C—载药前 N 元素分析；D—载药后 Ti 元素分析；E—载药后 C 元素分析；F—载药后 N 元素分析。

图 5 载药前后 Ti-MOF-79 的元素分析

Fig.5 Elemental Analysis of Ti-MOF-79 before and after Drug Loading

存在腺嘌呤和 **1** 的特征峰，说明 **1**@Ti-MOF-79 已被成功制成。

2.3.6 差示扫描量热法（DSC）

分别取 **1**、Ti-MOF-79 以及 **1**@Ti-MOF79 3 ～ 10 mg，进行 DSC 分析，结果如图 7C 所示，**1**@Ti-MOF-79 在接近 200 ℃时候出现了 **1** 受热分解的特征峰，表明该复合物中含有 **1**，即该复合物已被成功制备。

2.4 **1**@Ti-MOF-79 中 **1** 的载药量以及包封率

首先建立标准曲线。称取 **1** 0.01 g 加入 Tween-80 100 μL 溶解，用纯水稀释成 4、6、8、10、12 和 14 μg/mL 的 **1** 溶液，然后在 374 nm 处分别测定吸光度（*D*）值。以质量浓度（*c*）为横坐标、**1** 的 *D* 值作为纵坐标作图，得标准曲线方程 $D=0.102\ 5c-0.283\ 6$，$R^2=0.990\ 1$。

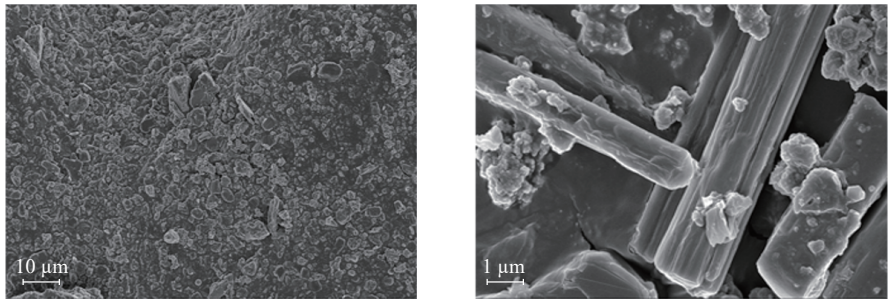
通过紫外分光光度计测定合成 **1**@Ti-MOF-79 的过程中上清液在 374 nm 处的 *D* 值，根据所建立的标准曲线计算 **1** 的含量，根据下式计算载药量和包封率。

下层材料中的药量 = 原始药量 － 上清液中药物含量

载药量 = 下层材料中的药量 / 原始药量 ×100%

包封率 = 下层材料中的药量 /（原始药量 + 材料中的药量）×100%

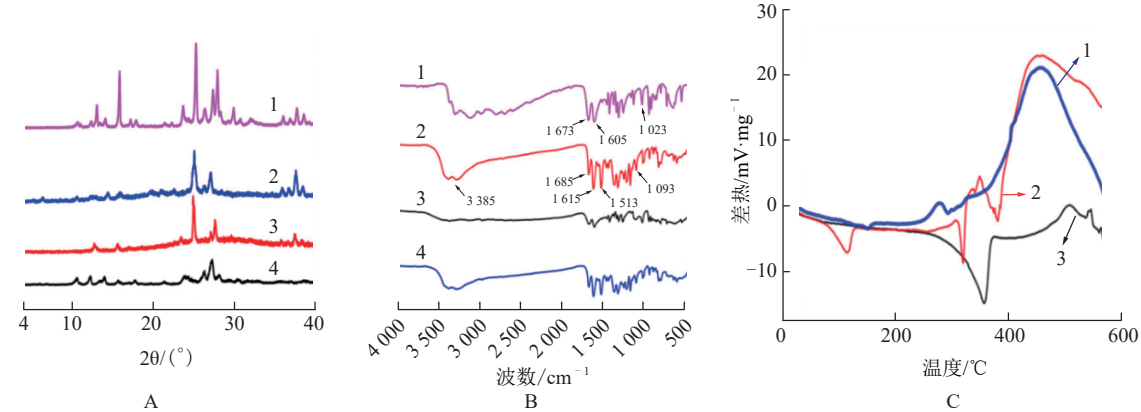
结果表明，**1**@Ti-MOF-79 中 **1** 的载药量为



A　　B

图 6　Ti-MOF-79（A，×100 000）**和 1@Ti-MOF-79**（B，×1 000 000）**的 SEM 照片**

Fig.6　SEM Images of Ti-MOF-79 (A, ×100 000) and **1**@Ti-MOF-79 (B, ×1 000 000)



A—XRD 图谱；B—红外光谱；C—DSC 曲线。

图 7　1@Ti-MOF-79 的表征

Fig.7　Characterization of **1**@Ti-MOF-79

(28.83±8.35)%，包封率为 (43.66±16.8)% (n=3)。

2.5 1@Ti-MOF-79 中 1 的稳定性

照文献[14]方法测试 **1**@Ti-MOF-79 的稳定性。取 **1**、**1**@Ti-MOF-79 各 10 mg，分别加水 30 mL 制成水溶液，避光常温保存。用氢氧化钠溶液 (0.1 mol/L) 调节至溶液呈强碱性 (pH 约为 10)，分别于 0.5、1、2、4、6、8、12、16、18、24 和 36 h 时吸出溶液 3 mL，在 374 nm 处检测 D 值，其中 **1**@Ti-MOF-79 组样品需加入强酸（浓盐酸）破坏骨架结构后再进行测定，根据下式计算 **1** 的相对强度。

$$相对强度 = D_{样品}/D_{0\,h}\times 100\%$$

结果如图 8 所示，在碱性溶液中 **1**@Ti-MOF-79 的相对强度一直高于 **1** 组，在 36 h 后依然可达到 44.9%；而游离 **1** 组的相对强度仅 33%左右，并且还有明显的下降趋势。这说明构建的载药系统可提高 **1** 的稳定性，原因可能是 Ti-MOF-79 可以减少 **1** 与溶液的接触，从而减缓氧化降解的速度，提高稳定性。

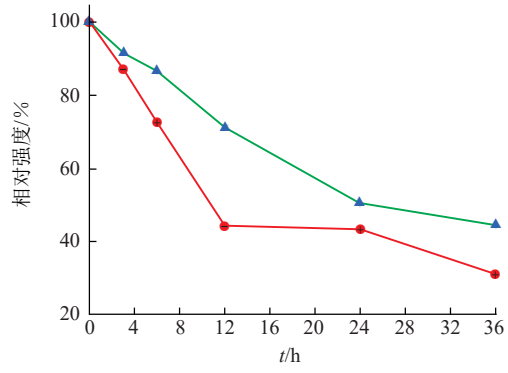
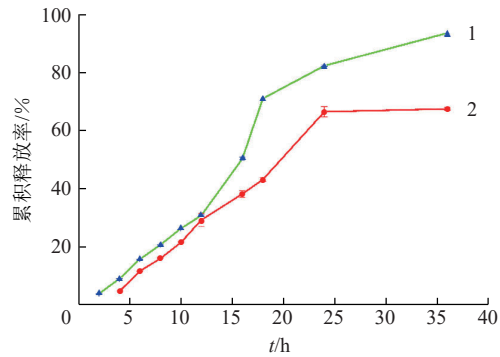


图 8 游离 1 和 1@Ti-MOF-79 在碱性溶液中的稳定性 (n=3)

Fig.8 Stability of Free **1** and **1**@Ti-MOF-79 in Alkaline Solution (n=3)

2.6 1@Ti-MOF-79 的体外释放

通过透析袋法[27]考察载药复合物以及游离药物的释放情况。分别取游离 **1** 以及冻干的 **1**@Ti-MOF-79 各 6.225 mg，放入透析袋（截留分子量 35 000）中，加入少量 Tween-80 后用 PBS (pH 7.4) 定容到 10 mL。将上述溶液放入透析袋中并且用细线绑紧，固定于的溶出杯中，温度设置为 (37±0.5)℃，杯中倒入 PBS 200 mL，搅拌并计时。分别于 0.5、1、2、4、6、8、12、16、18、24 和 36 h 时取样取 3 mL（同时补加等量的 PBS），在 374 nm 处检测 D 值，计算累积释放率，考察载药 **1**@Ti-MOF-79 的释药性能，结果如图 9 所示。



1—**1**；2—**1**@Ti-MOF-79。

图 9 游离 1 和 1@Ti-MOF-79 的体外释放曲线 (n=3)

Fig.9 *In vitro* Release Profiles of Free **1** and **1**@Ti-MOF-79 (n=3)

在 36 h 时游离 **1** 以及 **1**@Ti-MOF-79 的累积释放率分别达到 93.50%和 66.99%，且 **1**@Ti-MOF-79 的释放速度总体低于游离 **1**。**1**@Ti-MOF-79 中 **1** 的释放分为 2 个阶段：开始 24 h 的快速释放期和随后 12 h 的缓慢释放期。结合相关文献[28]分析：快速释放期可能是吸附在 MOF 表面的药物分子快速释放；缓慢释放期是 MOF 孔道中的 **1** 分子释放，可能由于孔道及分子间的相互作用，释放缓慢。为了研究药物的释放动力学以及所涉及的机制，将所得载药复合物的释放数据分别用零级方程、一级方程、Higuchi 方程和 Peppas 方程拟合。结果显示，**1**@Ti-MOF-79 中 **1** 的释放在 36 h 内用 Higuchi 方程拟合时效果较好，R^2=0.943 6，表明在 36 h 内主要依靠扩散作用释药，且与 Ti-MOF-79 的多孔结构具有一定的关系[29]。

2.7 材料安全性考察

2.7.1 溶血试验

从大鼠的心脏取血 8 mL，离心 (25×g) 10 min，

沉淀用 0.9%生理盐水洗涤 2 次，直到上清液不再发红。加入质量浓度分别为 0.5、1、2 和 3 mg/mL 的 Ti-MOF-79 混悬液，在 37 ℃下连续孵育 24 h。以 0.9%生理盐水为阴性对照组、蒸馏水为阳性对照组。观察血液与 Ti-MOF-79 混悬液共同孵育后是否出现红细胞膜被破坏而导致的溶液变红现象。表 2 为在材料安全性考察中所加材料以及生理盐水的具体配比。试验结果显示，与 5 号生理盐水（阴性对照）以及 6 号（阳性对照）相比，4 种不同质量浓度的 Ti-MOF-79 混悬液并没有发生明显的溶血，表明材料的安全性良好。

表 2　溶血试验中红细胞悬液与生理盐水的配比

Tab.2　The Ratios of Erythrocyte Suspension to Normal Saline in Hemolysis Test

材料	试管编号					
	1	2	3	4	5	6
2%的红细胞悬液/mL	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
生理盐水/mL	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0
纯水/mL	—	—	—	—	—	1.5
Ti-MOF-79混悬液/mg	1.5	3	4.5	9	0	—

2.7.2　Ti-MOF-79 的细胞毒性

考虑到实际应用，还需要验证 Ti-MOF-79 是否具有细胞毒性。

取处于对数生长期、生长状态良好的 HUVECs 细胞，以每毫升 5 000 个细胞接种于 96 孔板，于 DMEM/F-12 培养基中，37 ℃、5% CO_2 和饱和湿度条件下，培养箱中孵育过夜。将 Ti-MOF-79 通过紫外线消毒后于 DMEM/F-12 培养基中孵育（混匀放置）24 h，然后过滤（0.22 μm 滤膜）除菌。用 DMEM/F-12 培养基配制不同质量浓度（100、75、50、25、10 μg/mL）的 Ti-MOF-79 混悬液，并以 DMEM/F-12 培养基为阴性对照。每孔加入上述混悬液 100 μL，每个浓度重复 5 个孔，再于 37 ℃、5% CO_2 和饱和湿度培养箱中孵育 24 h。每孔加入 MTT 溶液（5 mg/mL）20 μL，DMEM 培养基 80 μL，于 37 ℃、5% CO_2 和饱和湿度培养箱中孵育 4 h，除去废液，每个孔加入的 DMSO 100 μL，轻微振荡 10 min，使甲瓒结晶充分溶解。采用酶标仪测定各孔在 490 nm 波长处的吸光度（OD）值，按下式计算细胞活力。结果如图 10 所示。

$$细胞活力=OD_{试验组}/OD_{对照组}\times100\%$$

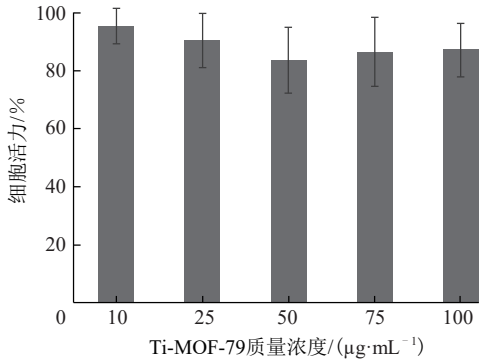


图 10　Ti-MOF-79 质量浓度对 HUVECs 细胞活力的影响（*n*=5）

Fig.10　Effect of Mass Concentrations of Ti-MOF-79 on Viability of HUVECs Cells (*n*=5)

结果表明，与质量浓度为 10 ～ 100 μg/mL 的 Ti-MOF-79 混悬液孵育 24 h，细胞活力均在 80%以上，说明该材料对 HUVECs 细胞无明显细胞毒性。本试验表明，合成的 Ti-MOF-79 是一种具有良好生物相容性的材料，适合作为新型药物载体。

2.7.3　**1**@Ti-MOF-79 对肿瘤细胞的抑制作用

按“**2.7.2**”项下方法考察 **1**@Ti-MOF-79 对黑色素瘤细胞的抑制作用。结果如图 11 所示，**1**、腺嘌呤、Ti-MOF-79 及 **1**@Ti-MOF-79 对黑色素瘤细胞均有不同程度的抑制效果，抑制率分别约为 42%、18%、12%和 55%。这表明腺嘌呤也有一定的抑制肿瘤细胞的作用，当 Ti-MOF-79 骨架缓慢坍塌时，释放出的腺嘌呤会起一定作用，与 **1** 协同作用使 **1**@MOF-79 的治疗效果最佳。综上所述，**1**@Ti-MOF-79 不仅提高了 **1** 的稳定性，还增加了治疗效果（P<0.05）。

3　小结

本研究采用加热搅拌的方法首次成功制备了以腺嘌呤为有机配体、钛为金属核心的生物型金属有机骨架 Ti-MOF-79，同时以 Ti-MOF-79 为载体，成功装载 **1**，得到了 **1**@Ti-MOF-79，载药量为（28.83±8.35）%。体外试验表明该复合物在 36 h 内累积释放率高达 66.99%，同时提高了 **1** 的稳定性。

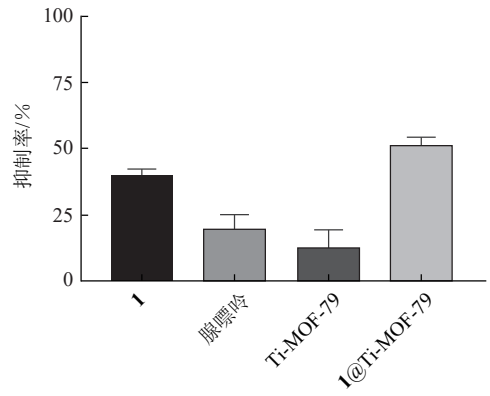


图 11 1、腺嘌呤、Ti-MOF-79 以及 1@Ti-MOF-79 对黑色素瘤细胞的抑制作用（*n*=5）

Fig.11 Inhibition Effects of **1**, Adenine, Ti-MOF-79 and **1**@Ti-MOF-79 against Melanoma Cells（*n*=5）

细胞试验结果显示，Ti-MOF-79 生物相容性较好、毒性低，载药后对肿瘤细胞抑制效果好，有望解决因突释及药物不稳定导致的应用问题，有潜力通过口服给药方式治疗肿瘤。但该载体载药量的不稳定性还有待进一步探讨和研究。

参考文献：

[1] ASHRAFIZADEH M, AHMADI Z, FARKHONDEH T, *et al*. Autophagy as a molecular target of quercetin underlying its protective effects in human diseases [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2019, **128**(1): 200-208.

[2] 张佳凤, 赵 辉, 何 平, 等. 槲皮素对人鼻咽癌细胞生长和AKT/mTOR通路表达的影响[J]. 温州医科大学学报, 2021, **51**(4): 266-270.

[3] BATIHA G E, BESHBISHY A M, IKRAM M, *et al*. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: quercetin [J]. *Foods*, 2020, **9**(3): 374.

[4] 俞芳菲. 槲皮素纳米脂质体的制备及抗TMV活性研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2020.

[5] 赵一飞. 介孔二氧化硅纳米微球的制备及其孔道控制研究[D]. 天津: 天津工业大学硕士学位论文, 2020.

[6] 吴 菲, 张龙骧, 李肖成, 等. 载腺嘌呤甘草次酸修饰透明质酸纳米粒的制备及其对肝癌细胞增殖的影响[J]. 中国药理学通报, 2018, **34**(5): 706-712.

[7] ZHANG A B, LIU B Y, LIU M X, *et al*. The adsorption properties of defect controlled metal-organic frameworks of UiO-66 [J]. *Sep Purif Technol*, 2021, **270**(6558): 118842.

[8] WANG C, DEKRAFFT K E, LIN W B. Pt nanoparticles@photoactive metal-organic frameworks: efficient hydrogen evolution via synergistic photoexcitation and electron injection [J]. *J Am Chem Soc*, 2012, **134**(17): 7211-7214.

[9] XAMENA F X L, ABAD A, CORMA A, *et al*. MOFs as catalysts: activity, reusability and shape-selectivity of a Pd-containing MOF [J]. *J Catal*, 2007, **250**(2): 294-298.

[10] CHEN H Y, YANG T, LIU F Q, *et al*. Electrodeposition of gold nanoparticles on Cu-based metal-organic framework for the electrochemical detection of nitrite [J]. *Sens Actuators B*, 2019, **286**: 401-407.

[11] YIN Y, YANG J J, PAN Y C, *et al*. Mesopore to macropore transformation of metal-organic framework for drug delivery in inflammatory bowel disease [J]. *Adv Healthc Mater*, 2020, **10**(3): e2000973.

[12] 赵悦竹, 张薇薇, 付庆辉, 等. 类沸石咪唑酯骨架(ZIFs)及其复合物在药物递送系统中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2019, **50**(11): 1256-1261.

[13] ROTH STEFANIAK K , EPLEY C C , NOVAK J J, *et al*. Photo-triggered release of 5-fluorouracil from a MOF drug delivery vehicle [J]. *Chem Commun*(Camb), 2018, **54**(55): 7617-7620.

[14] WEI J, ZHANG H Y, WU J L, *et al*. CuS@MOF-based well-designed quercetin delivery system for chemo-photothermal therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, **10**(40): 34513-34523.

[15] IMAZ I, MARTA RUBIO-MARTÍNEZ, AN J, *et al*. Metal-biomolecule frameworks(MBioFs) [J]. *Chem Commun*(Camb), 2011, **47**(26): 7287-7302.

[16] AN J, GEIB S J, ROSI N L. Cation-triggered drug release from a porous zinc-adeninate metal-organic framework [J]. *J Am Chem Soc*, 2009, **131**(24): 8376-8377.

[17] GŁADYSIAK A, NGUYEN T N, ANDERSON S L, *et al*. Shedding light on the protonation states and location of protonated N atoms of adenine in metal-organic frameworks [J]. *Inorg Chem*, 2018, **57**(4): 1888-1900.

[18] WUTTKE S, LISMONT M, ESCUDERO A, *et al*. Positioning metal-organic framework nanoparticles within the context of drug delivery – a comparison with mesoporous silica nanoparticles and dendrimers [J]. *Biomaterials*, 2017,

123: 172-183.

[19] ROSI N L, KIM J, EDDAOUDI M, *et al*. Rod packings and metal-organic frameworks constructed from rod-shaped secondary building units [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, **127**(5): 1504-1518.

[20] ROJAS S, GUILLOU N, HORCAJADA P. A Ti-based nanoMOF as efficient oral therapeutic agent [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(25): 22188-22193.

[21] JIANG K, ZHANG L, HU Q, *et al*. A biocompatible Ti-based metal-organic framework for pH responsive drug delivery [J]. *Mater Lett*, 2018, **225**: 142-144.

[22] YANG X H, WANG Y G XIONG H M, *et al*. Interfacial synthesis of porous MnO_2 and its application in electrochemical capacitor [J]. *Electrochim Acta*, 2007, **53**(2): 752-757.

[23] GAO Y B, WANG Z P, CUI C C, *et al*. Amorphous manganese oxide as highly active catalyst for soot oxidation [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, **27**(12): 13488-13500.

[24] 王海燕, 崔　群, 刘夜蓉, 等. 一种绿色合成金属有机骨架材料MOF-801的方法: 中国, 108940212A [P]. 2018-12-07.

[25] 齐雪梅, 吴　强, 施予邓, 等. 金属有机骨架材料MOF-5的制备及其吸附性能研究[J]. 上海电力学院学报, 2018, **34**(1): 66-70.

[26] RODRÍGUEZ-FÉLIX F, DEL-TORO-SÁNCHEZ CL, JAVIER CINCO-MOROYOQUI F, *et al*. Preparation and characterization of quercetin loaded zein nanoparticles by electrospraying and study of *in vitro* bioavailability [J]. *J Food Sci*, 2019, **84**(10): 2883-2897.

[27] 高金龙, 贾云婷, 谷　娜, 等. ZIF-8的制备及其作为杀菌药物载体的研究[J]. 分子科学学报, 2018, **34**(4): 324-330.

[28] 杨宝春, 陈志良, 邹尚荣, 等. 金属有机骨架MIl-53装载抗肿瘤药氟尿嘧啶的基础研究[J]. 中国药学杂志, 2014, **49**(2): 129-133.

[29] LI Z, PENG Y, XIA X Y, *et al*. Sr/PTA metal organic framework as a drug delivery system for osteoarthritis treatment [J]. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 17570.