

具有近红外光热转换性能的双层氧化硅包覆金纳米花复合材料的制备及体内代谢研究

宋文植², 李慧², 张艳², 何丹¹, 李英姿²,
黄臻臻³, 刘新², 尹万忠¹

(1. 吉林大学第一附属医院, 长春 130021; 2. 吉林大学中日联谊医院, 长春 130031;
3. 吉林大学化学学院, 长春 130012)

摘要 采用种子生长法和改良 Stöber 法制备了双层氧化硅包覆的金纳米花复合材料, 并测试了其近红外光热转换性能, 研究了其在裸鼠体内的生物毒性, 并以种植了人口腔鳞癌 CAL27 细胞的荷瘤裸鼠为体内模型, 应用光声成像方法研究了其体内分布、代谢和在肿瘤组织的被动靶向富集行为. 结果表明, 所制备的金纳米花复合材料在近红外光区具有良好的光热转换性能, 无明显体内生物毒性, 是一种良好的光声成像剂, 其在荷瘤裸鼠体内主要经肝脏代谢至肠道排出体外, 可通过 EPR 效应实现在肿瘤组织的靶向富集. 本研究证明所制备的双层氧化硅包覆金纳米花复合材料可用于生物体内治疗, 可作为包括口腔癌在内的恶性肿瘤近红外光热诊疗的理想介导材料.

关键词 金纳米花-二氧化硅复合粒子; 核壳结构纳米粒子; 光声成像; 近红外光热转换; 口腔癌
中图分类号 O614; O644 **文献标志码** A

口腔癌是人类常见的恶性肿瘤之一. 据统计, 每年全球新增口腔癌病例三十余万人, 死亡病例十四余万人^[1]. 常规的口腔癌治疗方法是采用手术治疗和放疗、化疗相结合的综合疗法, 不仅存在着破坏患者口腔系统正常形态和生理功能及不易根治的缺点, 而且毒副作用大、易产生耐药性, 严重降低了患者的生存质量. 因此, 发展无创、高效的口腔癌早期诊断及新型多功能抗肿瘤药物输送体系和联合治疗方法迫在眉睫.

纳米科技日新月异的发展为生物医学的发展开辟了新思路, 以纳米金为代表的贵金属纳米粒子研究尤为活跃. 人们发现, 金纳米球壳、纳米棒、纳米花、纳米笼等由于尺寸和形貌的变化可以引起纳米粒子表面电子的等离子共振变化 (SPR), 使材料吸收峰由可见光区红移至近红外光区 (700~1200 nm), 具有了特殊的近红外吸收功能^[2]. 当纳米金粒子受到近红外激光照射时, 可以迅速将吸收的光能转化为热能, 使体系温度升高. 这种纳米金近红外 (NIR) 消光特性和近红外光热转换性能的发现使其成为理想的肿瘤近红外热疗介导材料, 并由此出现了一种全新的肿瘤治疗方法——纳米金及其复合材料介导的近红外光热治疗 (PTT)^[3-6]. 随着研究的深入, 人们发现纳米金介导的近红外热疗不仅可以通过热消融、诱导肿瘤细胞凋亡等方式高效杀灭肿瘤细胞^[7-9], 而且纳米金材料本身还是一种良好的成像剂和影像增强剂. 例如, 金纳米棒自身在暗场显微镜下可发出明亮的红光^[10], 金纳米棒和金纳米球壳等均可以作为良好的核磁共振成像 (MRI) 和 CT 成像的影像增强剂^[11-13], 金纳米花材料具有显著的尖端电磁场增强效应, 可被有效用于表面增强拉曼散射 (SERS), 通过拉曼成像实现单细胞水平的检测, 在肿瘤早期诊断和治疗监测中发挥重要作用^[14,15]. 光声成像 (PAI) 是近年发展起来的新型检查

收稿日期: 2018-04-16. 网络出版日期: 2018-12-03.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 81372900)、吉林省科技发展计划项目 (批准号: 20110708, 20180414014GH) 和 2014 年吉林大学交叉创新择优资助项目资助.

联系人简介: 尹万忠, 男, 博士, 副教授, 主要从事纳米材料在头颈肿瘤诊疗中的应用研究.

E-mail: yinwz@jlu.edu.cn

诊断方法, 实验证明, 纳米金材料是良好的光声成像材料^[16], 可作为纳米探针同步进行生物体内肿瘤诊断和治疗的实时监测. 此外, 优良的生物相容性和可修饰性也使纳米金及其复合材料成为理想的药物载体, 通过与高分子材料或硅基材料复合, 可以负载化疗药物或光动力药物^[17,18], 一方面增加了药物在血液循环中的稳定性, 减小了药物毒性; 另一方面可实现药物的近红外光热控释, 并且达到光热治疗与化疗、光热治疗与光动力治疗的联合治疗作用. 由于早期诊断和综合治疗是肿瘤治疗及预后的关键, 将成像诊断、载药、协同治疗集中于一个多功能纳米平台已成为当前的研究热点^[13,19,20]. 然而, 目前集诊疗于一体的多功能纳米复合材料的研制还需进一步深入, 且此类新型纳米复合材料的生物体内毒性和体内分布、代谢等尚需系统研究.

本文从纳米金材料的近红外吸收特性出发, 构建了以金纳米花(AuNF)为内核的、包覆有双层氧化硅材料的新型多功能纳米金复合材料, 并研究了该材料的近红外光热转换性能. 为探讨该材料在生物体内应用的可行性, 研究了该材料在裸鼠体内的生物毒性, 并以种植有人口腔鳞癌 CAL27 细胞的荷瘤裸鼠为体内模型, 通过小动物活体光声成像技术研究了材料在生物体内的分布、代谢及在肿瘤组织中的被动靶向性等, 以期双层氧化硅包覆的金纳米花复合材料应用于包括口腔癌在内的恶性肿瘤的生物体内诊疗提供依据.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

四氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)、氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)和十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)购于国药集团化学试剂有限公司; 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氢氧化钠(NaOH)和抗坏血酸(L-AA)购于美国 Sigma 公司; 乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)和正硅酸乙酯(TEOS)购于北京化工厂; 硝酸铵(NH_4NO_3)购于天津富起化工有限公司, 以上试剂均为优级纯; TEOS 使用前经减压蒸馏提纯; 高纯水利用 Millipore Milli-Q 纯水仪制备. 裸鼠(BALB/cA-nu)购于北京华阜康生物科技股份有限公司, 雄性, 6~8 周, 体重(20 ± 2) g.

SHIMADZU UV-1800 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); EOL-2010 型透射电子显微镜(日本电子公司); PB-10 型 pH 计(德国 Sartorius 公司); MOST Invision 128 超高分辨小动物活体超声成像系统(德国 iTheraMedical 公司); DL-808 nm-20 W 型半导体光纤耦合激光器(长春新产业光电技术有限公司).

1.2 双层二氧化硅包覆金纳米花复合材料的制备

双层二氧化硅包覆金纳米花复合材料($\text{AuNF} @ \text{SiO}_2 @ \text{mSiO}_2$)的制备流程如 Scheme 1 所示.



Scheme 1 Synthesis of $\text{AuNF} @ \text{SiO}_2 @ \text{mSiO}_2$ nanoparticles

1.2.1 金纳米花粒子的制备 采用种子生长法制备金纳米花粒子^[21]. 向 250 mL 烧瓶中加入 97.36 mL 水和 2.64 mL HAuCl_4 (9.46 mmol/L) 水溶液, 将该溶液加热至沸腾后, 加入 1.00 mL 5% (质量分数) 柠檬酸钠溶液, 即制得平均粒径为 25 nm 的金纳米粒子^[22]. 取 10.0 mL 上述制备的金纳米粒子, 于 10000 r/min 转速下离心 10 min, 弃去上清液, 将金纳米粒子沉淀重新分散于柠檬酸钠溶液 (1.75 mmol/L) 中, 在 400 r/min 磁力搅拌下向该溶液中依次加入 240 μL 抗坏血酸 (0.2 mol/L), 47.5 μL 1 mol/L NaOH 溶液和 269 μL HAuCl_4 (10.0 mmol/L) 水溶液, 立刻出现金纳米花的蓝绿色溶液.

1.2.2 二氧化硅包覆金纳米花粒子的制备 采用改良 Stöber 法在 AuNF 上包覆一薄层 SiO_2 ^[23]. 向含有 4 mL 乙醇与 1 mL H_2O 的混合溶液中依次加入 2 μL TEOS, 100 μL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 2.6 μL 5% 柠檬酸钠溶液. 取上述制备的金纳米花分散液 10 mL, 加 10 mL 水后于 6000 r/min 离心 4 min, 弃去上清液, 将沉淀部分加入 Stöber 体系, 室温下反应 4 h 后转入 40 $^\circ\text{C}$ 水浴中继续反应 6 h, 即制备出二氧化硅包覆金纳米花 ($\text{AuNF} @ \text{SiO}_2$) 复合粒子.

1.2.3 金纳米花@二氧化硅@介孔二氧化硅粒子的制备 首先按如下配方配制醇-水混合溶液: 即 0.3 mL CTAB (20 mmol/L) 乙醇溶液 + 1.4 mL H_2O + 5 μL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 3 μL TEOS. 取 5 mL 上述制备的

AuNF@SiO₂ 粒子, 离心(10000 r/min, 10 min)后分别用水和乙醇洗涤3次. 之后, 将离心沉淀物加入到预先配制好的醇-水混合溶液中, 室温下搅拌(400 r/min)反应4 h. 将反应物离心(10000 r/min, 10 min), 分离出沉淀, 分别用水和乙醇洗涤沉淀2次后重新分散在20 mL 硝酸铵的乙醇溶液(0.24 g/L)中, 在60 °C 水浴中继续搅拌回流, 反应6 h后, 将溶液冷却至常温后进行离心(10000 r/min, 10 min), 所得沉淀分别用水和乙醇洗涤, 即制备出金纳米花@二氧化硅@介孔二氧化硅粒子(AuNF@SiO₂@mSiO₂), 其中, 外层为介孔二氧化硅, 内层为致密薄层二氧化硅^[24].

1.3 双层二氧化硅包覆金纳米花复合粒子的近红外光热转换性能测试

以不同功率的808 nm 近红外激光对不同浓度的 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 金纳米花复合粒子水溶液(2 mL)照射20 min, 采用自制的实时测温系统记录实验中的温度变化值并绘制光热转换曲线. 其中, 近红外激光功率分别为5, 7和9 W/cm², 样品浓度分别为0, 50, 100, 150, 200和250 μg/mL.

1.4 体内生物毒性测试

将12只裸鼠(BALB/cA-nu)分成2组, 每组6只; 对照组每只裸鼠通过尾静脉注射0.2 mL 生理盐水, 实验组每只裸鼠通过尾静脉注射浓度4 mg/mL 的 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 溶液0.2 mL, 于相同条件下饲养, 15 d后处死, 摘眼球取血, 分离血清进行血生化指标检测, 并取重要器官心脏、肝脏、脾脏、肾脏后用4%福尔马林溶液固定, 石蜡包埋, 切片苏木素-伊红染色(HE)染色, 在显微镜下观察其形态学变化.

1.5 材料在体内的代谢、分布及在肿瘤组织中的高通透性和滞留效应(EPR 效应)

以人口腔癌CAL27 细胞荷瘤裸鼠(BALB/cA-nu)为动物实验模型研究 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 金纳米花复合材料的体内分布代谢及其在肿瘤组织中的靶向富集.

荷瘤裸鼠模型的建立: 采用含10%胎牛血清、100 U/L 青霉素和100 U/L 链霉素的DMEM 培养基, 在37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度的恒温箱贴壁培养, 每1~2 d 传代一次. 待细胞长满后, 按要求收集细胞, 倾出培养瓶的DMEM 培养基, 用25%胰蛋白酶消化后, 加入4~5 mL 含10%胎牛血清的DMEM 培养基终止消化, 吹打制成细胞悬液, 于1000 r/min 转速下离心5 min, 倾出上清液, 反复冲洗1~2次后按一定比例加入无血清DMEM 培养基配制成7×10⁶ cell/mL 浓度的瘤细胞悬液. 向每只裸鼠大腿外侧注射0.1 mL 瘤细胞悬液, 种植肿瘤细胞后约21 d 成瘤, 成瘤率70%.

将裸鼠经尾静脉注射0.2 mL AuNF@SiO₂@mSiO₂(4 mg/mL)溶液, 在异氟烷活体麻醉状态下, 在其体表涂抹超声偶联剂, 并放置于水平动物支架上, 通过塑料薄膜将裸鼠与周围水环境隔开, 在34 °C 水环境下对裸鼠进行多光谱3D 断层扫描. 扫描波长设置为680 nm, 在1, 3, 6, 12, 24, 48和72 h 各时间点裸鼠进行全身多光谱3D 断层扫描, 并通过MOST 系统进行信息采集和重建后获得荷瘤裸鼠活体近红外光声图像. 实验过程中裸鼠未出现不良反应.

2 结果与讨论

2.1 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 的表征

双层二氧化硅包覆的金纳米花复合粒子的透射电镜照片和紫外-可见吸收光谱见图1. 由图1(A)可见, 所合成的 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 粒子呈球形, 粒径为(100±10) nm, 分散性良好, 粒子核心是尺寸为50 nm 左右的刺状金纳米花, 包覆在金纳米花粒子表面的是厚度约为20~30 nm 的内层致密氧化硅壳层和外层介孔氧化硅层, 此种结构特点有利于金纳米花材料的稳定性和近红外光学性能. 由于金纳米花粒子本身不稳定, 常温下与周围环境接触时易发生粒子间熟化而失去近红外光吸收功能. 为了解决这个问题, 我们采用改良的Stöber 法在金纳米花粒子外包覆了一薄层致密二氧化硅壳层, 以保证其与周围环境隔离, 解决了金纳米花的粒子间熟化问题, 既提高了金纳米花粒子的结构稳定性, 又保证了其近红外光学性能的稳定. 为进一步实现抗肿瘤药物的负载, 在上述合成的 AuNF@SiO₂ 壳核粒子表面再包覆一层介孔二氧化硅, 以期利用介孔二氧化硅生物相容性好、比表面积大的优点实现药物的高效负载. 实验中以CTAB 为有机分子模板剂^[25], 加入TEOS 经水解形成外层SiO₂ 包覆的双层壳核结构, 然后通过硝酸铵/乙醇溶液进行CTAB 的萃取, 得到外层二氧化硅的多孔道结构^[26]. 从透射电镜照片

中可清楚地看到金纳米花外包覆的双层结构, 外层二氧化硅壳层中的介孔清晰可见[图 1(A)]. 这种双层硅壳包覆金纳米花复合纳米粒子是集近红外热疗与药物负载功能于一体的多功能纳米复合材料. 图 1(B) 为其紫外-可见吸收光谱, 可以看到所制备的 $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ 金纳米花复合粒子的吸收峰位于 653 nm 处, 在近红外光区有显著的光吸收性质. 将制备好的 $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ 粒子溶液于 4 °C 存放 7 d, 溶液状态无明显变化, 表明材料具有良好的稳定性.

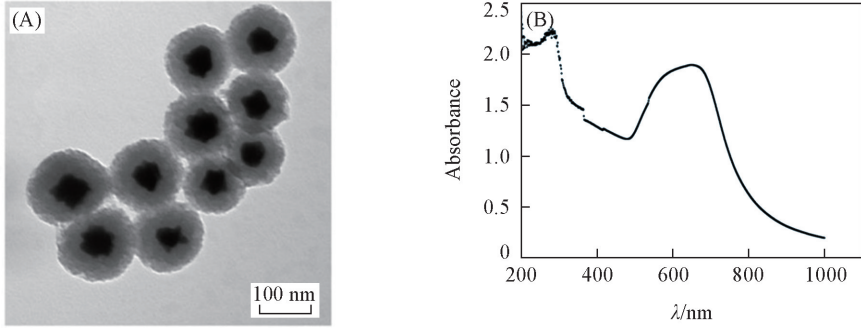


Fig.1 TEM image(A) and UV-Vis spectrum(B) of the $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ nanoparticles

2.2 金纳米花复合材料的近红外光热转换性能

不同浓度的金纳米花复合粒子水溶液在不同功率近红外激光照射下的光热转换曲线见图 2. 由图 2 可以看出, 以不同功率的 808 nm 近红外激光对不同浓度的 $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ 金纳米花复合粒子水溶液进行照射时, $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ 金纳米花复合粒子的光热转换性能与粒子浓度及近红外激光的强度有关. 在相同的外界条件下, 体系升温速度和幅度随着纳米粒子的浓度及激光功率的增加、照射时间的延长而增加. 例如, 在激光功率为 5 W/cm^2 , 粒子浓度为 50, 100, 150, 200 和 $250 \mu\text{g/mL}$ 时体系最高温度分别达到 34.5, 38.6, 41.6, 43.4 和 $44.8 \text{ }^\circ\text{C}$. 同样, 当粒子浓度不变, 近红外激光功率增加到 7 及 9 W/cm^2 时, 体系的升温幅度也有显著增加, 而对照组温度没有明显改变. 同时, 体系温度随照射时间的延长而增加, 照射一定时间后到达平台期. 结果表明, $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ 金纳米花复合粒子具有良好近红外光热转换能力, 位于复合粒子核心的金纳米花粒子通过其表面等离子共振, 可吸收连续波激光发出的近红外低能辐射, 使其内部产生电子跃迁, 进而产生大量的热, 高效地将近红外光能转化为热能^[27]. 由于肿瘤组织和细胞耐热性较差, 在 $42\sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 肿瘤细胞可以被杀死而不损伤周围正常组织细胞, 因此可以通过调控 $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ 金纳米花复合材料的浓度和激光功率来控制体系温度, 达到杀灭口腔癌细胞而不损伤周围正常细胞的效果. 该研究可为此种金纳米花复合材料用于包括口腔癌在内的恶性肿瘤近红外光热治疗 (PTT) 提供依据.

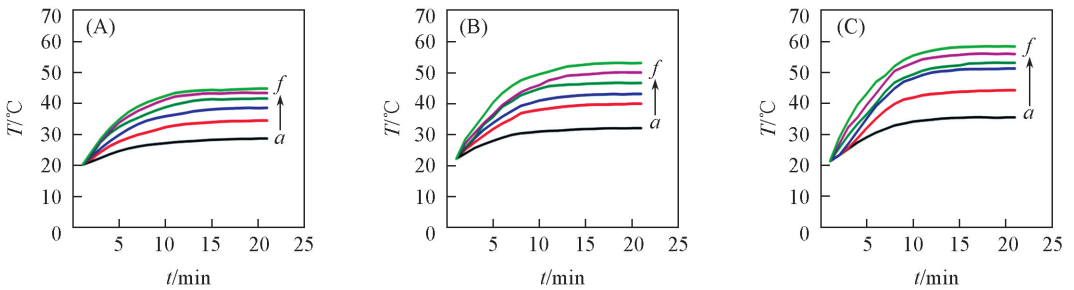


Fig.2 Photo-thermal conversion curves of the aqueous dispersions of $\text{AuNF@SiO}_2@m\text{SiO}_2$ nanoparticles with different concentrations under the NIR laser irradiation with power of 5 W/cm^2 (A), 7 W/cm^2 (B) and 9 W/cm^2 (C)

a. Control; b. $50 \mu\text{g/mL}$; c. $100 \mu\text{g/mL}$; d. $150 \mu\text{g/mL}$; e. $200 \mu\text{g/mL}$; f. $250 \mu\text{g/mL}$.

2.3 金纳米花复合材料对裸鼠重要脏器的影响及裸鼠血清生化结果分析

在显微镜下观察注射金纳米花复合粒子组与空白对照组裸鼠各重要脏器的组织形态, 结果见图 3. 由图 3 可见, 对照组与实验组各重要脏器包括肝脏、心脏、肾脏和脾脏的镜下组织结构与形态均未见

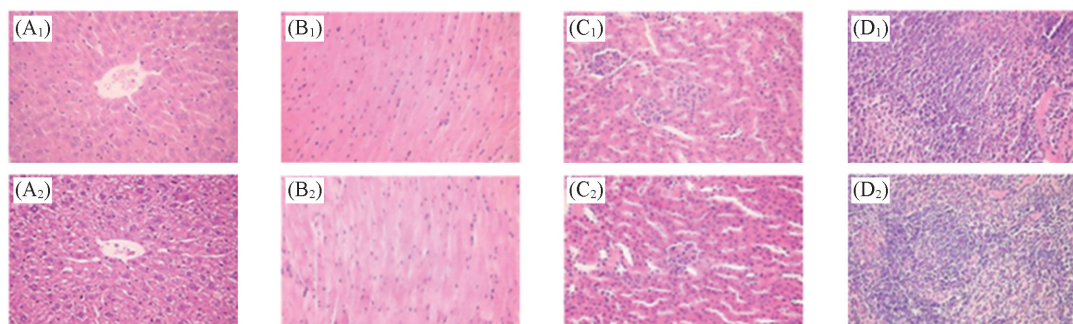


Fig.3 Morphological observation on different organs of the nude mice

(A₁—D₁): control group; (A₂—D₂): test group. (A₁, A₂): liver; (B₁, B₂): heart; (C₁, C₂): kidney; (D₁, D₂): spleen.

异常, 细胞未见明显损伤. 血清各生化指标检测结果(表 1)表明, 反映肾脏功能的血生化指标血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr), 反映肝脏功能的指标谷丙转氨酶(GAT)、天门冬氨酸氨基转移酶(GOT), 反映心肌功能的指标肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)在实验组与对照组中均无明显差异. 因此可以认为本实验制备的金纳米花复合材料对小鼠体内组织器官无明显生物毒性, 具有良好的生物相容性, 可用于生物体内诊疗.

Table 1 Serum biochemical indices of the nude mice injected with AuNF@SiO₂@mSiO₂ nanoparticles

Group	$c(\text{BUN})/$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	$c(\text{Cr})/$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	$c(\text{GPT})/$ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	$c(\text{GOT})/$ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	$c(\text{CK})/$ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$c(\text{CK-MB})/$ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	$c(\text{LDH})/$ ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)
Experimental	2.121±0.066	55.975±1.234	110.245±3.075	205.989±6.022	0.911±0.058	2010.113±78.94	893.717±20.256
Control	2.158±0.091	54.70±1.264	108.843±2.587	201.655±4.578	0.877±0.041	1962.32±63.825	882.432±23.278

2.4 金纳米花复合粒子体内分布代谢与在肿瘤组织的靶向富集

多光谱光声成像(PAI)是一种新型生物医学成像方法^[28,29], 其结合了纯光学组织成像中高选择特性和纯超声组织成像中深穿透特性的优点, 用于生物医学领域具有如下优势: (1) 从原理上避开了光散射的影响, 突破了高分辨率光学成像深度的限制, 声波散射率较低, 可实现 50 mm 的深层活体内组织成像^[30,31]; (2) 较高的空间分辨率(<1 mm), 可得到高分辨率和高对比度的组织图像; (3) 较高的灵敏性, 可实现细胞器和分子水平成像, 在纳米粒子体内实时示踪等领域具有潜在应用价值^[32,33]. 近年来光声成像技术得到快速发展, 已在包括肿瘤学在内的生物医学领域得到越来越广泛的应用^[34-36].

经尾静脉注射复合材料 1, 3, 6, 12, 24, 48 和 72 h 后分别对荷瘤裸鼠进行全身多光谱 3D 断层扫描, 获得的荷瘤裸鼠活体近红外光声图像见图 4. 由图 4 可见, 所制备的纳米复合材料是良好的近红外光声成像材料, 可实现清晰的深部组织活体成像. AuNF@SiO₂@mSiO₂ 复合粒子经尾静脉注射后首先在肝脏区域聚集, 该区域光声信号强度随时间延长逐渐增强, 6 h 左右在肝脏区域的聚集达到峰值, 肝脏形态清晰可见, 说明纳米复合材料通过尾静脉注射入小鼠体内后, 先在肝脏被含有巨噬细胞的网状内皮系统所摄取, 而不是像其它小的粒子经肾脏代谢; 6 h 后复合纳米粒子逐渐进入胃肠道, 腹部区域

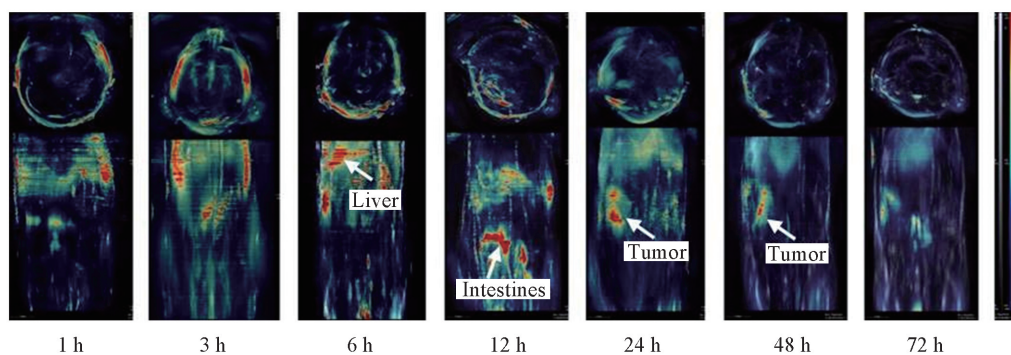


Fig.4 Photoacoustic imaging of the living CAL27-tumour-bearing mice after tail intravenous injection of AuNF@SiO₂@mSiO₂ nanoparticles

光声信号开始变强, 成像变亮, 同时肝脏区域图像亮度逐渐减弱; 12 h 后肝脏区域信号强度降至低水平, 而腹部肠道区域信号强度及成像亮度则达到峰值; 24 h 后腹部成像信号减弱, 而肿瘤部位光声信号强度达到最强, 亮度最高. 由于实体瘤组织中血管丰富、血管内皮细胞间隙较宽、结构完整性差, 淋巴回流缺失, 使一些大分子类物质如纳米粒子、脂质颗粒、大分子药物等易于透过血管壁而在肿瘤组织中富集, 这种现象被称作实体瘤组织的高通透性和滞留效应, 简称 EPR 效应^[37]. EPR 效应促进了纳米粒子等大分子类物质在肿瘤组织的选择性分布, 达到被动靶向效果. 本实验中光声图像显示制备的纳米金复合材料在注射 24 h 后肿瘤组织光声信号最强, 说明注射后的 24 h 内血液循环中有一部分纳米粒子因肿瘤组织的 EPR 效应, 不断透过不连续的血管内皮细胞间隙渗透入肿瘤组织内并逐渐增多, 在 24 h 达到富集高峰, 这种纳米复合材料在肿瘤组织内的被动靶向富集是实现肿瘤靶向治疗的重要前提. 纳米材料注射 48 h 后荷瘤裸鼠体内的光声信号强度减弱, 72 h 后信号接近空白水平, 表明纳米复合材料基本排出体外, 整个过程中裸鼠无不良反应. 上述结果说明 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 纳米复合材料的代谢是经肝脏摄取, 经肠道排出体外, 注射入体内后 24 h 纳米复合材料在肿瘤组织达到富集高峰, 提示此时可进行肿瘤的靶向近红外热疗或药物的光热控释.

综上所述, 本文制备的双层二氧化硅包覆的金纳米花纳米复合材料 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 是一种良好的近红外光声成像剂, 通过小动物活体光声成像不仅可实现深部组织器官成像, 而且可直观实时动态地观察此种新型纳米复合材料在体内的分布和代谢. 所制备的金纳米花复合材料在注射 24 h 后达到在肿瘤组织中的被动靶向富集高峰, 提示在此时进行近红外激光照射下的光热治疗或光热-光动力 (PTT-PDT) 联合治疗、热化疗 (PTT-Chemotherapy) 等将达到最为理想的治疗效果, 具有较大指导意义. 所制备的 AuNF@SiO₂@mSiO₂ 金纳米花复合材料可用于生物体内治疗, 可作为集近红外实时成像、药物载体、光热-光动力或近红外热化疗联合治疗为一体的多功能纳米诊疗平台.

参 考 文 献

- [1] Torre L. A., Bray F., Siegel R. L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A., *CA Cancer J. Clin.*, **2015**, 65(2), 87—108
- [2] Jain P. K., Lee K. S., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. J., *Phys. Chem. B*, **2006**, 110(14), 7238—7248
- [3] Saverot S. E., Reese L. M., Cimini D., Vikesland P. J., Bickford L. R., *Nanoscale Res. Lett.*, **2015**, 10, 241—254
- [4] Fay B. L., Melamed J. R., Day E. S., *Int. J. Nanomedicine*, **2015**, 10, 6931—6941
- [5] Song W. Z., Jiang Y. P., Ji X. H., Zhao L. L., Yin W. Z., Yang W. S., *Chem. J. Chinese Universities*, **2012**, 33(9), 1886—1888 (宋文植, 姜雅萍, 纪小会, 赵丽丽, 尹万忠, 杨文胜. 高等学校化学学报, **2012**, 33(9), 1886—1888)
- [6] Huang H., Yang D. P., Liu M. H., Wang X. S., Zhang Z. Y., Zhou G. D., Liu W., Cao Y. L., Zhang W. J., Wang X. S., *Int. J. Nanomedicine*, **2017**, 12, 2829—2843
- [7] Gobin A. M., Moon J. J., West J. L., *Int. J. Nanomedicine*, **2008**, 3(3), 351—358
- [8] Manivasagan P., Bharathiraja S., Moorthy M. S., Oh Y. O., Song K., Seo H., Oh J., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, 9(17), 14633—14646
- [9] Rejija C. S., Jatish K., Raji V., Vibin M., Annie A., *Pharmacol. Res.*, **2012**, 65(2), 261—269
- [10] Huang X., El-Sayed I. H., Qian W., El-Sayed M. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 2115—2120
- [11] Jiao P., Otto M., Geng Q., Li C., Li F., Butch E. R., Snyder S. E., Zhou H., Yan B., *J. Mater. Chem.*, **2016**, 4(3), 513—520
- [12] Lin A. Y., Young J. K., Nixon A. V., Drezek R. A., *Small*, **2014**, 10(16), 3246—3251
- [13] Luo T., Huang P., Gao G., Shen G., Fu S., Cui D., Zhou C., Ren Q., *Opt. Express*, **2011**, 19(18), 17030—17039
- [14] Yi S. J., Sun L. M., Lenaghan S. C., Wang Y. Z., Chong X. Y., Zhang Z. L., Zhang M. J., *RSC Adv.*, **2013**, 3(26), 10139—10144
- [15] Chen J., Sheng Z., Li P., Wu M., Zhang N., Yu X. F., Wang Y., Hu D., Zheng H., Wang G. P., *Nanoscale*, **2017**, 9(33), 11888—11901
- [16] Zhou G., Xiao H., Li X., Huang Y., Song W., Song L., Chen M., Cheng D., Shuai X., *Acta Biomater.*, **2017**, 64, 223—236
- [17] Sun Y., Wang Q., Chen J., Liu L., Ding L., Shen M., Li J., Han B., Duan Y., *Theranostics*, **2017**, 7(18), 4424—4444
- [18] Sun Q., You Q., Pang X., Tan X., Wang J., Liu L., Guo F., Tan F., Li N., *Biomaterials*, **2017**, 122, 188—200
- [19] Cheng B., He H., Huang T., Berr S. S., He J., Fan D., Zhang J., Xu P., *J. Biomed. Nanotechnol.*, **2016**, 12(3), 435—449
- [20] Huang Y., Rosei F., Vetrone F., *Nanoscale*, **2015**, 7(12), 5178—5185
- [21] Stassi S., Cauda V., Canavese G., Manfredi D., Pirri C. F., *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2012**, 16, 2669—2673
- [22] Haiss W., Thanh N. T. K., Aveyard J., Fernig D. G., *Anal. Chem.*, **2007**, 79(11), 4215—4221

- [23] Stöber W., Fink A., Bohn E., *J. Colloid Interface Sci.*, **1968**, 26(1), 62—69
- [24] Yang J. P., Zhang F., Chen Y. R., Qian S., Hu P., Li W., Deng Y. H., Fang Y., Han L., Mohammad L., Zhao D. Y., *Chem. Commun.*, **2011**, 47(42), 11618—11620
- [25] Lai C. Y., Trewyn B. G., Jęftinija D. M., Jęftinija K., Xu S., Jęftinija S., Lin V. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125(15), 4451—4459
- [26] Feng J., Wang Z., Shen B., Zhang L., Yang X., He N., *RSC Adv.*, **2014**, 4(54), 28683—28690
- [27] Austin L. A., Mackey M. A., Dreaden E. C., Elsayed M. A., *Arch. Toxicol.*, **2014**, 88(7), 1391—1417
- [28] Li W., Chen X., *Nanomedicine*, **2015**, 10(2), 299—320
- [29] Xu M., Wang L. V., *Rev. Sci. Instrum.*, **2006**, 77, 041101
- [30] Andreev V. G., Karabutov A. A., Oraevsky A. A., *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, **2003**, 50(10), 1383—1390
- [31] Wang L. V., *Nat. Photonics*, **2009**, 3(9), 503—509
- [32] Erpelding T. N., Kim C., Pramanik M., Jankovic L., Maslov K., Guo Z., Margenthaler J. A., Pashley M. D., Wang L. V., *Radiology*, **2010**, 256(1), 102—110
- [33] Kim C., Cho E. C., Chen J., Song K. H., Au L., Favazza C., Zhang Q., Cobley C. M., Gao F., Xia Y., Wang L. V., *ACS Nano*, **2010**, 4(8), 4559—4564
- [34] Emelianov S. Y., Li P. C., O'Donnell M., *Phys. Today*, **2009**, 62(8), 34—39
- [35] Zhang E. Z., Povazay B., Laufer J., Alex A., Hofer B., Pedley B., Glittenberg C., Treeby B., Cox B., Beard P., Drexler W., *Biomed. Opt. Express*, **2011**, 2(8), 2202—2215
- [36] Jansen K., van der Steen A. F. W., van Beusekom H. M. M., Oosterhuis J. W., van Soest G., *Opt. Lett.*, **2011**, 36(5), 597—599
- [37] Maeda H., Nakamura H., Fang J., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2013**, 65(1), 71—79

Preparation of Gold Nanoflower-double Layer Silica Core-shell Nanoparticles and Their Photothermal Properties and Metabolism *in vivo*[†]

SONG Wenzhi², LI Hui², ZHANG Yan², HE Dan¹, LI Yingzi²,
HUANG Zhenzhen³, LIU Xin², YIN Wanzhong^{1*}

(1. The First Clinical Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China;

2. China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun 130031, China;

3. College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract Gold nanoflower-double layer silica core-shell nanoparticles were prepared by a seed-mediated growth strategy and a modified Stöber method. The photothermal properties and the biotoxicity *in vivo* of the as-prepared core-shell nanoparticles were studied. The nude mice bearing oral cancer cell CAL27 were taken as the animal model to investigate the distribution, metabolism and passive targeting enrichment of the core-shell nanoparticles *in vivo* by the photoacoustic imaging technique. The results showed that the as-prepared core-shell nanoparticles exhibited excellent photothermal conversion properties in near infrared (NIR) region. The core-shell nanoparticles could be well metabolized in the liver, and could be excreted outside of the body through the intestinal tract. More importantly, the core-shell nanoparticles exhibited passive targeting enrichment in the tumor tissue through EPR effect. Our study show that the gold nanoflower-double layer silica core-shell nanoparticles would be an ideal photoacoustic imaging agent and a NIR photothermal therapy agent for diagnose and therapy of malignant tumors such as oral cancer.

Keywords Gold nanoflower-silica nanocomposites; Core-shell nanoparticles; Photoacoustic imaging (PAI); Near infrared (NIR) photothermal conversion; Oral cancer

(Ed.: F, K, M)

[†] Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81372900), the Science and Technology Development Plan of Jilin Province, China (Nos.20110708, 20180414014GH) and the Preferential Cross Innovation Project of Jilin University, China (2014).