

文章编号: 1000-7032(2011)08-0848-05

玫瑰红与介孔二氧化硅生物光敏复合体的激发态性质

杨一飞¹, 单 含², 涂浪平¹, 刘晓敏¹, 曾庆辉¹, 杜 创¹, 孔祥贵^{1*}

(1. 中国科学院 激发态重点实验室 长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033;

2. 长春理工大学, 吉林 长春 130022)

摘要: 以光动力治疗药物玫瑰红(Rose Bengal, RB)与孔径为 2.7 nm 的介孔二氧化硅 MCM-41 为主体材料进行结构组装, 制备了具有生物光敏功能的介孔复合载体。对介孔复合载体的性质进行了表征, 通过紫外吸收和荧光光谱对玫瑰红 RB 在介孔孔道内的光学性质进行了分析。由于介孔道表面与 RB 的相互作用, 不同结构和性质的内孔道中的 RB 荧光发射峰发生了相应的红移和蓝移。

关键词: 介孔材料; 光敏剂; 光动力治疗

中图分类号: O482.31

PACS: 78.55.Kz

PACC: 7855K

文献标识码: A

DOI: 10.3788/fgxb20113208.0848

1 引 言

从 1992 年以来, 介孔材料已经广泛应用于催化、发光、电子等各个领域。介孔材料具有孔径有序、可调(2~30 nm)、孔尺寸分布窄和比表面积大等优点^[1]。这种结构上的特性为其应用奠定了重要的材料基础。现在已有很多关于利用主客体材料理论制备新的功能性材料的研究报道^[2-4], 并利用介孔材料的优点设计合适的主体材料和客体材料。利用光敏材料与介孔纳米材料进行构建、组装, 将对发展光敏药物及介孔材料的新型应用, 解决生物医药研究领域中的诸多科学难题提供新的思路和途径。介孔硅系材料的高比表面积性质使其可以吸附高浓度的光敏药物分子或其它特殊功能的药物分子而不会致其相互反应, 同时还可以起到使药物分子富集、改善药效与降低毒性的功能。如果制备组装成分子控制开关, 则可有效地控制药物分子的释放, 避免其受新陈代谢和免疫反应的影响^[5-7]。

利用光敏材料的光动力学治疗的方法杀死肿瘤细胞现在已经成为治疗癌症的有效手段^[8-9]。目前, 玫瑰红(Rose Bengal, RB)已经被广泛地用

于肿瘤的光动力学治疗^[10-13]。在光动力学治疗中, RB 是一种常用的具有荧光发射的光敏分子, 在相应光激发下, 通过共振能量传递方式, 可与环境氧分子相互作用产生单线态氧, 这是其用于肿瘤光动力治疗的基础。RB 存在水溶性较差和靶向差的问题, 纳米生物技术的发展, 为解决上述问题提供了新的途径。

本文将 RB 的优点与介孔 MCM-41 材料的优异性能相结合, 进行光敏载体的制备、组装和结构性质的表征分析。研究了 RB 分子与不同内孔道结构的介孔二氧化硅相互作用对 RB 光学性质的影响。

2 实 验

2.1 试剂及测试方法

正硅酸乙酯(TEOS)、3-(氨丙基)三乙氧基硅、丙基顺丁烯酸三甲氧基硅烷、十六烷基三甲基溴化铵(C16TAB)和孟加拉玫瑰红均购自Aldrich。乙醇、二甲基甲酰胺(DMF)、氢氧化钠和盐酸均购自北京化学试剂厂。实验用水为去离子超纯水(Milipore, 18.2 MΩ)。

晶体结构用 X 射线衍射仪检测(Rigaku, D/max- τ A), Cu 靶 K α 辐射线($\lambda = 0.154\ 06\ \text{nm}$)。

收稿日期: 2011-04-23; 修订日期: 2011-07-06

基金项目: 国家自然科学基金(60771051, 10904142, 11074249, 11004189, 60971026, 11004188)资助项目

作者简介: 杨一飞(1978-), 女, 内蒙古赤峰人, 主要从事介孔材料的研究。

E-mail: yifei.yang@gmail.com, Tel: (0431) 86176313

*: 通讯联系人; E-mail: xgkong14@ciomp.ac.cn, Tel: (0431) 86176313

透射电镜 (TEM) 使用 Hitachi H-8100 型透射电子显微镜,将样品分散于乙醇溶液中,超声分散 10 min 然后滴到覆盖有碳膜的铜网上并使其充分干燥后进行测试。场发射扫描电镜 (FESEM) 分析使用 Hitachi S-4800 型场发射扫描电子显微镜。样品处理方法是将粉末分散在溶剂中超声分散 10 min 然后把溶液滴在硅片上,晾干后固定在电镜台上进行测试。氮气吸附/脱附分析测定是使用 Micromeritics ASAP 2010M apparatus。比表面积测定用 Brunauer-Emmett-Teller (BET) 方法于 77.4 K 条件下进行。所有样品分析前先在 200 °C 下真空处理 2 h。BET 比表面积通过在相对压力为 $(0.101 \sim 3.03) \times 10^4$ Pa 的范围内的 N_2 吸附数据计算得到。总的孔体积通过在相对压力为 1.00×10^5 Pa 时的吸附量计算得到。发射光谱收集使用 SPECTRAQ Fluorolog 分光光度计。

2.2 实验方法

MCM-41 型介孔二氧化硅采用文献 [14] 方法制备。并用去离子水清洗获得最终产物。实验使用的玫瑰红 5-羧基戊基酯用文献 [15] 的方法由玫瑰红制得(玫瑰红和玫瑰红 5-羧基戊基酯的分子式示于图 1 中)。分别采用 3-(氨丙基)三乙氧基硅和丙基顺丁烯酸三甲氧基硅烷得到含不同有机基团的介孔二氧化硅(包括 $-NH_2$ MCM-41 和 $-COOH$ MCM-41),将制备好的介孔二氧化硅(MCM-41、 $-NH_2$ MCM-41 和 $-COOH$ MCM-41)放入浓度为 10^{-4} mol/L 的玫瑰红 5-羧基戊基酯乙醇溶液中浸泡 2 h,过滤,用乙醇小心反复冲洗样品,在空气中自然晾干。

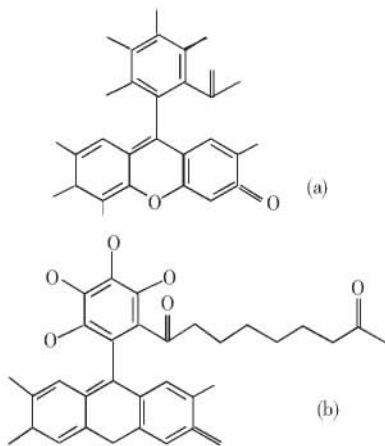


图 1 玫瑰红 (a) 和玫瑰红 5-羧基戊基酯 (b) 的分子式
Fig. 1 Molecular structures of rose bengal (a) and 5-carboxypentyl bengaloxypentyl ester (b)

3 结果与讨论

严格来说, MCM-41 介孔分子筛并不是晶体,而是如图 2 插图 (b) 所示的无定形体,其孔壁内的原子并不是有序排列的。它之所以具有晶体的特征,是由于其六方介孔呈周期性排列,因而在 XRD 图谱上具有六方晶体结构的特征衍射峰。由图 2 (a) 可知,用十六烷基三甲基溴化铵 (C16TAB) 为模板剂,合成得到的样品均在低衍射角区域存在一强的衍射峰 (100),此外在 $3^\circ \sim 6^\circ$ 还存在几个弱峰,这与文献报道的具有六方有序介孔结构的 MCM-41 的特征衍射峰符合^[16],表明所合成样品中的无机骨架是具有 MCM-41 特征的六方介孔结构。

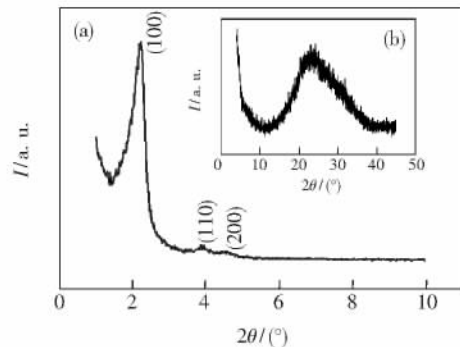


图 2 MCM-41 介孔二氧化硅小角 XRD 图 (a)。插图为 MCM-41 介孔二氧化硅 XRD 图 (b)。

Fig. 2 Low-angle XRD pattern of MCM-41 (a). Inset: XRD pattern of MCM-41 (b).

合成 MCM-41 介孔分子筛的 N_2 等温物理吸附线属于 IUPAC 定义的 IV 型等温吸附线,是介孔材料最常见的一种吸附行为。在 P/P_0 为 0.2 ~ 1.0 区域有一个滞后环代表两端都开放的具有圆柱形的孔结构且孔径大小高度均一的多孔介孔材料。从图 3 (a) 中可以看到,两种样品的 N_2 等温吸附-脱附过程可分为 3 个阶段:

(1) 在 P/P_0 较低的起始阶段, N_2 吸附量随着分压增高而平缓增加,这是由于 N_2 分子以单层到多层吸附在 MCM-41 介孔内表面上的造成的。

(2) 随着 P/P_0 增加, N_2 吸附量突然增加,在曲线上表现为一个突越。这是由于 N_2 在介孔中发生的毛细凝聚现象造成的。毛细凝聚现象出现的位置、大小和程度与孔径分布有关,孔径增大,此现象在较高 P/P_0 区出现。如果第二阶段对应

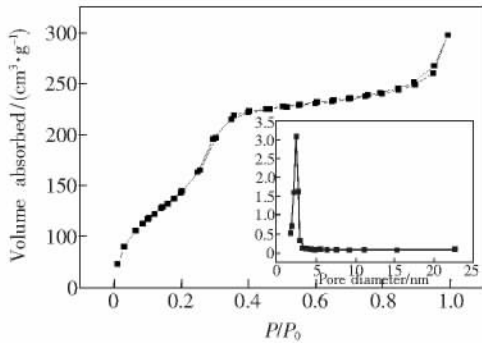


图 3 MCM-41 介孔二氧化硅的氮气吸附-脱附曲线。插图: 孔尺寸分布曲线。

Fig. 3 N₂ adsorption/desorption isotherms for MCM-41; inset: pore-size distribution from the adsorption branch.

的 P/P_0 区窄, 则意味着孔径分布窄。

(3) P/P_0 进一步增加, N_2 分子以单层到多层吸附于外表面, 吸附量平缓增加。图 3 内插图给出了样品的 Barrett-Jouner-Halenda (BJH) 孔径大小分布图, 可以看到样品的孔径约为 3 nm。

由图 4(a) 可以看出: MCM-41 介孔二氧化硅颗粒外形轮廓明显, 颗粒大小均匀。根据图中标尺, 颗粒尺寸为 70~80 nm。图 4(b) 中在平行于孔轴方向, 可观察到样品一维孔道的六方排列; 在垂直于孔轴方向, 可观察到样品的一维孔道结构, 显示出直的平行孔, 孔间互不相通, 孔道均匀。

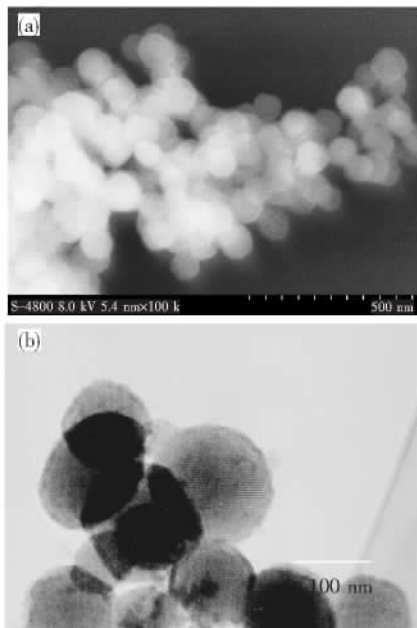


图 4 MCM-41 介孔二氧化硅的 SEM 图片 (a) 和 TEM 图片 (b)

Fig. 4 SEM (a) and TEM (b) images of MCM-41

图 5 中的曲线分别是 10^{-4} mol/L 的玫瑰红 5-羧基戊基酯与含不同官能团的 MCM-41 复合材料的 DMF 溶液的发射光谱, 峰位分别在 577.5, 586.5, 565.5, 572 nm。图中: 玫瑰红 5-羧基戊基酯 DMF 溶液表示为 RB; 玫瑰红 5-羧基戊基酯和-COOHMCM-41 复合表示为 RB@COOHMCM-41; 玫瑰红 5-羧基戊基酯和-NH₂MCM-41 复合表示为 RB@NH₂MCM-41; 玫瑰红 5-羧基戊基酯和 MCM-41 复合表示为 RB@MCM-41。由图 5 可见, 纳米光敏载体中玫瑰红 5-羧基戊基酯的发光峰的峰位相对单纯 RB 的发射峰极大位置产生了红移。由于玫瑰红 5-羧基戊基酯是含共轭芳环的化合物, 环境因素可能对分子的荧光产生强烈的影响。荧光染料激发时通常发生从基态 π 到激发态 π^* 的跃迁, 其电子激发态比基态具有更大的极性, 并且外界环境极性的增大对激发态将产生更大的稳定作用。根据介孔二氧化硅的模板合成机理可知, 介孔氨基功能化的二氧化硅和普通介孔二氧化硅孔道表面富含带负电荷的氧负离子和羟基或氨基。玫瑰红 5-羧基戊基酯分子嵌入其中时, 与氧负离子和羟基或氨基分别形成静电和氢键作用, 这些作用将玫瑰红 5-羧基戊基酯分子束缚在介孔二氧化硅孔道中, 使发色团的 π 键电子云部分局域在电负性较大的氧原子周围, 导致玫瑰红 5-羧基戊基酯分子中的电子激发态能量升高, 从而产生光谱蓝移。由于氨基的氢键作用力要强于羟基, 所以其蓝移程度大。而羧基功能化的介孔二氧化硅与玫瑰红 5-羧基戊基酯分子的羧基直接存在着静电排斥作用, 玫瑰红 5-羧基戊基酯的激发谱产生了红移。

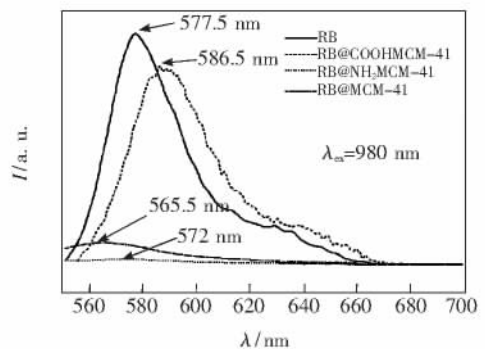


图 5 纳米复合物的发射光谱 (RB、RB@COOHMCM-41、RB@NH₂MCM-41 和 RB@MCM-41)。

Fig. 5 Fluorescence spectra of RB, RB@COOHMCM-41, RB@NH₂MCM-41 and RB@MCM-41 in DMF.

4 结 论

制备和组装了基于尺寸为70~80 nm的介孔硅与光敏剂RB分子的光敏纳米载体复合物。这是一种集光敏分子RB和介孔硅优点为一体的光敏药物载体体系。除了通过对载有光敏分子RB的介孔硅表面进行亲水基团修饰的手段改善光敏

分子的RB的水溶性、富集性、毒性、控释性,提高光敏分子RB光敏药效之外,还可通过对介孔硅内壁的不同修饰技术,改变光敏分子RB的发光性质,从而实现激发光对光敏分子的共振激发调控,以此来调控光敏分子RB的单线态氧产率,达到调控肿瘤光动力治疗的目的。这一研究初步为肿瘤光动力学治疗技术的发展提供了物理基础。

参 考 文 献:

- [1] Kresge C T, Leonowicz M E, Roth W J, *et al.* Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism [J]. *Nature*, 1992, **359**(6397): 710-712.
- [2] Frank H, Maximilian C, Morell J, *et al.* Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**(20): 3216-3232.
- [3] Kecht J, Bein T. Functionalization of colloidal mesoporous silica by metalorganic reagents [J]. *Langmuir*, 2008, **24**(24): 14209-14214.
- [4] Lin Chunxiang, Qiao Shizhang, Yu Chengzhong, *et al.* Periodic mesoporous silica and organosilica with controlled morphologies as carriers for drug release [J]. *Micropor. Mesopor. Mat.*, 2009, **117**(1-2): 213-219.
- [5] Ostapenko N, Telbiz G, Ilyin V, *et al.* Criticality of fluorescence spectra of the nanosized polysilanes oriented in the mesoporous silica [J]. *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **383**(5): 456-461.
- [6] Zhang Huidong, Zhang Ping, Ye Kaiqi, *et al.* Mesoporous material grafted with luminescent molecules for the design of selective metal ion chemosensor [J]. *J. Lumin.*, 2006, **117**(1): 68-74.
- [7] Volkova K, Kovalska V, Balanda A, *et al.* Specific fluorescent detection of fibrillar α -synuclein using mono- and trimethine cyanine dyes [J]. *Bioorgan. Med. Chem.*, 2008, **16**(3): 1452-1459.
- [8] Kojima C, Toi Y, Harada A, *et al.* Aqueous solubilization of fullerenes using poly(amidoamine) dendrimers bearing cyclodextrin and poly(ethylene glycol) [J]. *Bioconjugate Chem.*, 2007, **18**(3): 663-670.
- [9] Mitton D, Ackroyd R. A brief overview of photodynamic therapy in Europe [J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2008, **5**(2): 103-111.
- [10] Santos D, Albarelli J, Joyce K, *et al.* Sensitizer immobilization in photochemistry: evaluation of a novel green support [J]. *J. Chem. Technol. Biot.*, 2009, **84**(7): 1026-1030.
- [11] Posadaz A, Correa N, Biasutti M, *et al.* A kinetic study of the photodynamic effect on tryptophan methyl ester and tryptophan octyl ester in DOPC vesicles [J]. *Photochem. Photobiol.*, 2010, **86**(1): 96-103.
- [12] Chang Chengchung, Yang Yutsai, Yang Jenchang, *et al.* Absorption and emission spectral shifts of rose bengal associated with DMPC liposomes [J]. *Dyes Pigments*, 2008, **79**(2): 170-175.
- [13] Zhang Xiaojie, Jin Zhiliang, Li Yuexiang, *et al.* Efficient photocatalytic hydrogen evolution from water without an electron mediator over Pt-Rose bengal catalysts [J]. *J. Phys. Chem. C*, 2009, **113**(6): 2630-2635.
- [14] Lai C, Trewyn B, Jęftinija D, *et al.* A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**(15): 4451-4459.
- [15] Neckers D, Paczkowski J. Micro-organizational control of photochemical oxidations: Rose bengal and derivatives (XV) [J]. *Tetrahedron*, 1986, **42**(17): 4671-4683.
- [16] Beck J, Vallllli J, Roth W, *et al.* A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**(27): 10834-10834.

The Excited-state Properties of Rose Bengal Covalent Attachment onto The Walls of Mesoporous Molecular Sieves MCM-41

YANG Yi-fei¹, SHAN Han², TU Lang-ping¹, LIU Xiao-min¹,
ZENG Qing-hui¹, DD Chuang¹, KONG Xiang-gui¹

(1. *Key Laboratory of Excited-State Process, Changchun Institute of Optics Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China;*
2. *Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022, China*)

Abstract: Mesoporous hexagonal silica MCM-41 with pore sizes of 2.7 nm was synthesized and was used as host materials for the fabrication of photodynamic therapy materials by loading of rose bengal. Nitrogen sorption techniques, transmission electron microscopy, scanning electron microscopy, and X-ray diffraction were used to characterize the particles. The UV-Vis and photoluminescence of rose bengal in the channels of MCM-41 were also investigated. The functionalized composites showed strong fluorescence and obvious redshift of emission band comparing with rose bengal in DMF.

Key words: mesoporous materials; photosensitizing agent; photodynamic therapy

CLC number: O482.31 **PACS:** 78.55.Kz **PACC:** 7855K **Document code:** A

DOI: 10.3788/fgxb20113208.0848