



论文

NaYF₄:Yb/Er-碳纳米管功能纳米材料的制备、表征及其在肿瘤细胞的靶向检测和治疗中的应用

陈庆涛^{①③}, 陈风华^②, 刘桂霞^{①*}, 董相廷^①, 王进贤^①^① 长春理工大学化学与环境工程学院, 长春 130022^② 郑州轻工业学院材料与化学工程学院, 郑州 450002^③ 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所, 苏州 215123

*通讯作者, E-mail: liuguixia22@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-11-22; 接受日期: 2010-11-28

doi: 10.1360/032010-860

摘要 将叶酸分子(FA)和 2,3-二巯基丁二酸(DMSA)修饰的稀土上转换发光纳米粒子 NaYF₄:Yb/Er 通过酰胺键偶联在多壁碳纳米管(MWCNT)的表面, 得到 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 功能化复合纳米材料, 并通过透射电子显微镜(TEM)、X 射线衍射(XRD)、紫外-可见吸收光谱(UV-vis)、荧光光谱(PL)和共聚焦激光扫描显微镜等手段表征了其形貌、结构、发光性能和靶向成像性能. 共聚焦激光扫描显微镜结果表明, 相对于正常的 HLF 细胞, 所制备的复合材料能够靶向检测叶酸受体高表达的宫颈癌 Hela 细胞. 此外, 将阿霉素进一步通过“ $\pi\pi$ ”堆积吸附在此复合材料后, 该载药体系具有明显的抗肿瘤活性, 能够实现对肿瘤细胞的一步检测和治疗.

关键词纳米
NaYF₄:Yb/Er
叶酸
碳纳米管
阿霉素

1 引言

碳纳米管(CNT)作为独特的一维中空纳米材料, 其外表面除了可以非共价吸附各种分子, 还可以键合多种化学基团以实现增溶及靶向, 其内部空间则可以包埋离子以及小分子, 并且能以最小的毒性穿越细胞膜^[1, 2], 同时碳纳米管还能将吸收的特殊激光和射线转化为热量对肿瘤产生杀伤力^[3, 4], 因此, 近年来, 将其作为一种有效的药物或基因载体用于肿瘤的治疗引起了人们越来越多的关注^[5-8]. 而以 NaYF₄:Yb/Er 为代表的稀土上转换发光纳米材料作为新一代的生物发光标记, 相对于有机染料和量子点而言拥有许多优点, 例如毒性小、化学稳定性高、光稳定性好、吸收和发射带很窄、发光寿命长, 另外以近红外光(980 nm)作为激发光源, 有较深的光穿透深度、无组织荧光

背景、检测灵敏度高、对生物组织损伤小等, 在肿瘤的早期检测方面具有潜在的应用价值^[9-11]. 若将两者复合组装在一起, 再进一步修饰靶分子, 则可以得到集肿瘤的早期靶向检测与治疗于一体的纳米载药复合体系. 目前, 关于 CNT 和稀土上转换发光纳米材料复合的研究还没有文献报道. 本文成功地将二者复合, 并将 NaYF₄:Yb/Er-碳纳米管复合功能材料在肿瘤细胞的靶向检测和治疗中的应用进行了探索.

首先将多壁碳纳米管(MWCNT)的表面氨基化, 用于价键偶联修饰有羧基的稀土上转换发光纳米粒子 NaYF₄:Yb/Er(UCNP), 然后利用碳管表面未占用的氨基再与叶酸靶分子反应, 得到了叶酸修饰的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT 复合纳米材料(UCNP-MWCNT-FA, 制备流程如图 1 所示), 并对其进行了结构和形貌表征. 细胞成像实验表明所制备的复合

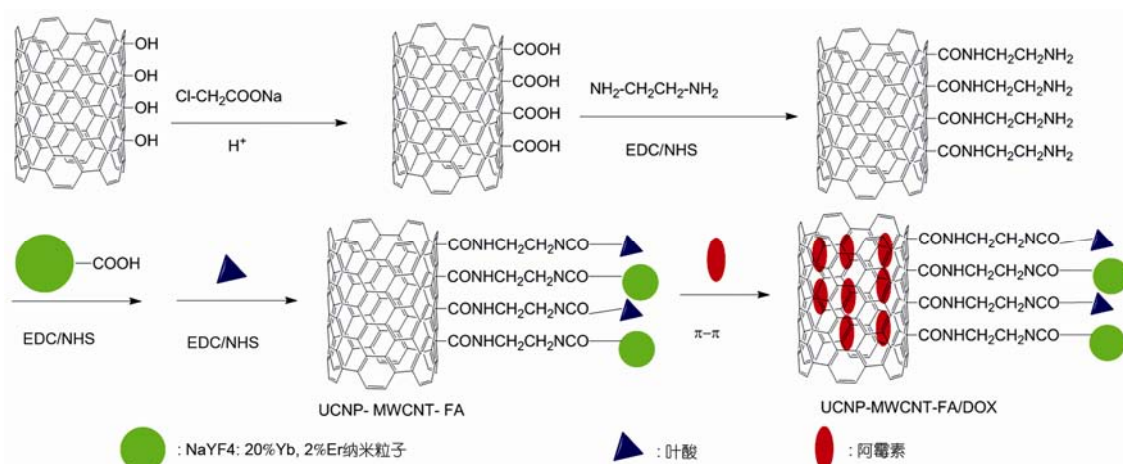


图1 叶酸修饰的NaYF₄:Yb/Er-MWCNT纳米复合材料(UCNP-MWCNT-FA)和UCNP-MWCNT-FA/DOX的制备流程图

材料能够有效地早期检测出叶酸受体高表达的肿瘤细胞(宫颈癌 Hela 细胞). 最后我们通过 $\pi\pi$ 作用将抗肿瘤药物阿霉素(DOX)负载在该复合材料上, 实现了肿瘤细胞的一步检测与治疗.

2 实验部分

2.1 实验原料

氧化钇(Y₂O₃, 99.999%), 氧化镱(Yb₂O₃, 99.99%)和氧化铒(Er₂O₃, 99.99%)购自五矿(北京)稀土研究院有限公司. 盐酸, 氢氧化钠(NaOH), 氟化铵(NH₄F), 无水乙醇, 甲醇, 甲苯购自国药集团化学试剂有限公司. 1-十八碳烯(90%), 油酸(90%), 二甲基亚砜(DMSO, $\geq 99.5\%$), 2,3-二巯基丁二酸(DMSA, 98%), 叶酸(FA, $\geq 97\%$), 阿霉素(DOX), *N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS, 98%)和 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDC, 98.5%)购自 Sigma-Aldrich. 所有试剂均为分析纯. 稀土氯化物由其氧化物制得, 实验用水为去离子水.

2.2 主要仪器

SZCL-2 数显智能控温磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司), Tecnai-G20 型透射电子显微镜(FEI, 美国), D8 ADVANCE with DAVINCI 型 X 射线衍射仪(Bruker, 德国), F-4600 型荧光光谱仪(Hitachi, 日本), UV-2550 型紫外可见分光光度计(岛津, 日本), TCS SP5 II 型共聚焦激光扫描显微镜(Leica, 德国), Nicolet 6700 型傅立叶红外光谱仪(Thermo Fisher

Scientific, 德国), Victor X4 型酶标仪(Perkin Elmer, 美国), Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度及 ZETA 电位分析仪(Malwen, 英国), KSI-11312-103-K98S 型 980 nm 激光器(北京凯普林光电科技有限公司), Thermo Scientific Heraeus Biofuge Stratos 台式高速离心机和 Thermo Scientific Forma Series II 水套 CO₂ 培养箱(Thermo Fisher Scientific, 德国).

2.3 碳纳米管的纯化与截短

取 200 mg MWCNT(由中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所器件部李清文课题组通过 CVD 方法自制并友好提供)加入到 80 mL HNO₃ 溶液(5 mol/L)中, 经 250 W 功率超声 30 min 充分分散后, 60 °C 回流 12 h, 反应结束后, 冷至室温, 离心, 水洗至中性, 经室温烘干后得到纯化的 MWCNT.

取 20 mg 纯化的 MWCNT 并将其超声分散在 200 mL 的去离子水中, 经 600 W 功率超声 1 h 后, 在 15000 r/min 转速下离心 30 min, 取上清液, 沉淀再超声分散在 200 mL 水中, 经 600 W 功率超声 1 h, 离心取上清液, 如此循环, 得到短化的 MWCNT 分散液. 然后再将此分散液经 0.45 μm 的微孔膜过滤取滤液, 得到最后所需要的短化的 MWCNT 分散液, 该分散液经超滤管(滤膜的截留分子量为 10,000)离心、室温烘干后得到短化的 MWCNT 样品.

2.4 碳纳米管的氨基化

将 10 mg 长度小于 1 μm 的 MWCNT(中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所器件部李清文课题

组友好提供)超声分散在 15 mL 的去离子水中, 然后加入 1.5 g 氢氧化钠和 1.2 g 氯乙酸钠, 冰水浴下超声反应 2.5 h 后用盐酸调至中性, 超滤(滤膜的截留分子量为 100000)、水洗, 如此循环三次, 将得到的羧基化碳纳米管超声分散在含有 1 g NHS 和 750 mg EDC 的 200 mL 去离子水中, 再加入 2 mL 的乙二胺, 室温下搅拌反应 48 h. 反应结束后, 超滤、水洗三次, 得到氨基修饰的碳纳米管, 并将其超声分散在 200 mL 去离子水中待用.

2.5 NaYF₄:20%Yb, 2%Er 上转换发光纳米材料的制备与修饰

向三颈瓶中加入 0.78 mmol YCl₃·6H₂O, 0.20 mmol YbCl₃·6H₂O, 0.02 mmol ErCl₃·6H₂O, 15 mL 油酸和 7 mL 1-十八碳烯, 在磁力搅拌和氩气保护下加热至 170 °C, 待稀土盐溶解完全后, 将温度降至 40 °C, 然后加入 5 mL 含有 2.5 mmol NaOH 和 4 mmol NH₄F 的甲醇溶液, 磁力搅拌反应 30 min, 然后在氩气保护下, 把溶液温度分别依次升到 70 °C 和 150 °C 蒸发甲醇和水, 待甲醇和水除去后, 将溶液温度继续升到 310 °C 反应 40 min, 反应结束后, 停止加热使温度降至室温, 用乙醇和去离子水的混合液(1:1)沉淀产物, 离心、乙醇洗涤, 如此循环两次, 得到油溶性的稀土上转换发光纳米粒子 NaYF₄:Yb/Er, 将其溶解在 10 mL 甲苯中. 向 2 mL NaYF₄:Yb/Er 的甲苯溶液中加入 2 mL 含有 30 mg DMSA 的 DMSO 溶液, 磁力搅拌下反应 12 h, 离心、水洗, 得到表面修饰有羧基的 NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子(NaYF₄:Yb/Er-COOH).

2.6 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 复合纳米材料的制备

取 15 mL 氨基化的 MWCNT 溶液, 依次向内加入 3 mL NaYF₄:Yb/Er-COOH 纳米粒子的水分散液、5 mL NHS 溶液(15 mM)和 5 mL EDC 溶液(75 mM), 室温搅拌反应 48 h, 然后再加入 2.25 mg 的叶酸, 调节 pH 值为 8 左右, 继续反应 36 h. 反应结束后, 超滤去除未反应的叶酸, 得到修饰有叶酸的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT 复合纳米材料.

2.7 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 纳米载药体系的制备

向 6 mL NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材

料的水分散液中加入 2.5 mg 阿霉素, 在摇床中过夜. 反应结束后, 超滤、水洗, 将未吸附的阿霉素去除干净(所有滤液收集于 250 mL 容量瓶中, 便于根据紫外吸收光谱测得载药量), 得到载有阿霉素的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料(UCNP-MWCNT-FA/DOX), 并将其分散至 5 mL 水中.

2.8 细胞成像实验

在含有 10%的胎牛血清和 1%的青霉素链霉素的 DMEM 培养基(高糖, Hyclone)中, 人肺纤维 HLF 细胞和宫颈癌 Hela 细胞分别接种在底部厚度为 0.17 mm 的细胞培养皿(WPI, FD35-100)中, 置于 37 °C、5%二氧化碳的细胞培养箱中培养 24 h 后, 弃去原培养基, 分别加入最终浓度为 50 μg/mL 的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料的 DMEM 培养基, 继续培养 1 h 后, 弃去培养基, 培养皿用 PBS 缓冲液(pH 7.4)清洗细胞 3 次除去未进细胞的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料, 随后用甲醇固定 20 min, 再次用 PBS 缓冲液清洗细胞 3 次, 最后加入 1 mL PBS 缓冲液保持细胞形貌. 用配置 980 nm 波长连续激光器的共聚焦激光扫描显微镜在 60 倍油浸物镜下观察细胞内的荧光.

2.9 阿霉素体外释放曲线的测定

分别取 2 mL NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 的水分散液置于截留分子量为 8000 的透析袋中, 紧密封口, 然后分别置于 10 mL 37 °C pH 为 7.4 和 5.5 的磷酸盐缓冲液中, 定时取 1 mL 释放介质测定其紫外吸收光谱, 同时补充等量释放液, 根据阿霉素工作曲线 $\text{Conc. } (\mu\text{g/mL}) = 12.1817\text{ABS} - 1.2557$ ($R = 0.9966$) 计算其浓度, 并绘制累计释药率-时间曲线.

2.10 细胞毒性实验

采用 MTT 法检测了 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料负载 DOX 前后对 HeLa 细胞的毒性. 把 100 μL 密度为 1×10^4 的 HeLa 细胞接种在 96 孔板中, 先在 37 °C, 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 24 h, 然后培养基分别被 100 μL 含有不同浓度(0.05、0.1 和 0.2 mg/mL) 的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 的培养基替换. 细胞在 37 °C, 5% CO₂ 下继续孵育 24 h 后, 每个孔中加入 15 μL 的 MTT (5 mg/mL), 37 °C, 5% CO₂ 下再孵育 4 h.

小心倒出培养基后, 每孔中加入 150 μL 二甲基亚砜, 振荡 10 min. 用酶标仪在 490 nm 处测定其光吸收值 (OD 值). 将没有加入复合纳米材料孵育的细胞作为对照组. 实验结果有四组平行实验数据求平均值得到.

$$\text{细胞活性}(\%) = ([\text{OD}]_{\text{实验组}} / [\text{OD}]_{\text{对照组}}) \times 100$$

3 结果与讨论

3.1 碳纳米管的氨基化

图 2(a)和图 2(b)分别为 MWCNT-COOH 和 MWCNT-NH₂ 的红外光谱. 图 2(a)中位于 1725 cm^{-1} 处的峰为 MWCNT 表面羧酸基团的 C=O 伸缩振动峰, 而图 2(b)中该 -COOH 的特征吸收峰消失, 出现了很强的位于 1634 cm^{-1} 处的酰胺羰基的伸缩振动峰. 此外, 图 2b 中位于 3356 和 1571 cm^{-1} 处的吸收峰, 归属于 N-H 的伸缩振动峰和弯曲振动峰, 说明 MWCNT 表面的羧基成功地转化为氨基官能团. 同时, 我们对 MWCNT 胺基化前后的 Zeta 电位值进行了测试, MWCNT-COOH 的 Zeta 电位值为 -46.7 mV, 经与乙二胺反应后, 中和了其表面的负电荷, 碳管表面被氨基所修饰, 其 Zeta 电位值升高到了 -20.6 mV, Zeta 电位值的升高也充分证明了乙二胺成功地修饰了 MWCNT.

3.2 透射电镜(TEM)分析

图 3(a)给出了所制备的油溶性稀土上转换发光纳米粒子 NaYF₄:Yb/Er 的 TEM 照片, 由图可知, 所得

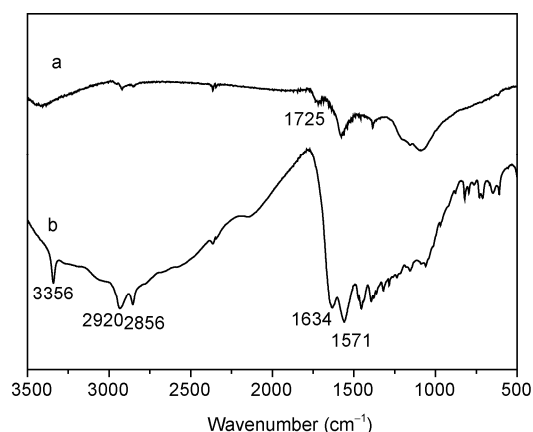


图 2 MWCNT-COOH (a)和 MWCNT-NH₂ (b)的红外光谱图

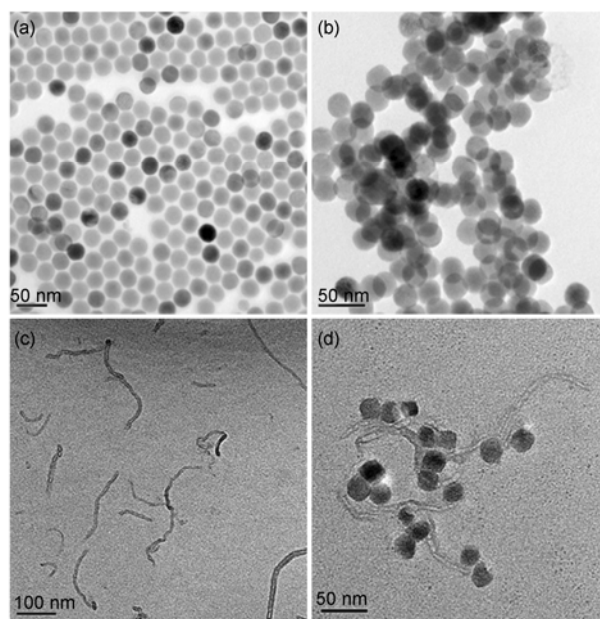


图 3 所制备的亲油性 NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子(a), NaYF₄:Yb/Er-COOH 纳米粒子(b), 氨基修饰的 MWCNT(c)和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料(d)的透射电镜照片

的样品为球形, 粒径约为 30 nm, 单分散性较好. 经 2,3-二巯基丁二酸修饰后发光纳米粒子的形貌和尺寸几乎没有发生改变, 只是略有聚集(如图 3(b)). 图 3(c)是氨基修饰的 MWCNT 的 TEM 照片, 由图可见, MWCNT 的外径大约为 10 nm, 长度在 100~300 nm 之间, 该尺寸大小的材料比较适合于在生物医学中的应用^[13]. 图 3(d)为 MWCNT、叶酸与 NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子复合后的 TEM 照片, 从图中可以明显看出, NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子均沿着 MWCNT 的外壁排列在其表面, 样品中没有单个的 NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子.

3.3 XRD 分析

图 4 给出了 MWCNT 与 NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子复合前后样品的 XRD 图谱. 图 4(a)为纯的 MWCNT 的 XRD 图, 图中位于 $2\theta = 25.8^\circ$ 和 42.8° 处的衍射峰分别归属为碳纳米管的 (002) 和 (100) 晶面的衍射峰. 图 4(b)为 NaYF₄:Yb/Er 样品的 XRD 图, 通过与标准卡片 JCPDS:28-1192 对照可知, 我们采用的有机配体高温溶剂热法^[14]制备的发光纳米粒子为六方晶相的 NaYF₄:Yb/Er, 并且样品的结晶度很高, 这对稀土发光粒子很重要, 因为高的结晶度意味着较少的晶

格和表面缺陷, 发光效率就高. 图 4(c)为 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料的 XRD 图, 与图 4(b)相对照, 图 4(c)除了具有六方晶相的 NaYF₄ 的衍射峰外, 在 $2\theta = 25.8^\circ$ 出现了 MWCNT 的特征峰(图 4(a))相对应, 进一步表明 NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子成功的交联在了 MWCNT 表面上.

3.4 紫外吸收光谱

在本工作中, 稀土上转换纳米粒子 NaYF₄:Yb/Er 和叶酸靶分子是依次通过 EDC 的交联作用修饰到功能化 MWCNT 的表面, 如图 5 的紫外吸收光谱可见, 纯的叶酸在 255 nm 和 284 nm 处有明显的特征吸收峰(图 5 虚线), 当叶酸修饰到 MWCNT 的表面后, 其位于 284 nm 处的特征吸收峰“蓝移”到了 277 nm(图 5 点划线), 这主要是由于叶酸的羧基与 MWCNT 上的氨基之间形成了酰胺键. 此外, 在所制备的 UCNP-MWCNT-FA 复合纳米材料的紫外吸收光谱中还出现了碳管在 230 nm 附近的宽的紫外吸收, 根据紫外特征吸收峰的叠加性, 可以充分的证明叶酸分子通过化学作用成功的负载到了 MWCNT 的表面, 制备了具有靶向功能的 MWCNT. 当制备的 UCNP-MWCNT-FA 复合材料进一步吸附阿霉素后, 其紫外吸收图谱(图 5 点虚线)中出现了阿霉素位于 233、255 和 499 nm 处的特征吸收峰, 与纯的阿霉素的紫外吸收光谱(特征吸收峰分别位于 232、253 和 493 nm(图 5 点线))相比发生了“红移”现象, 表明阿霉素成功地以“ π - π ”堆垛的形式担载在所制备的具有靶向功能的

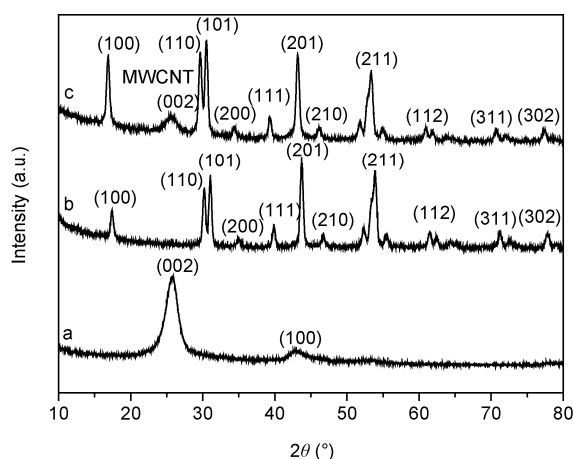


图 4 MWCNT(a), NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子(b)和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 纳米复合材料(c)的 XRD 图谱

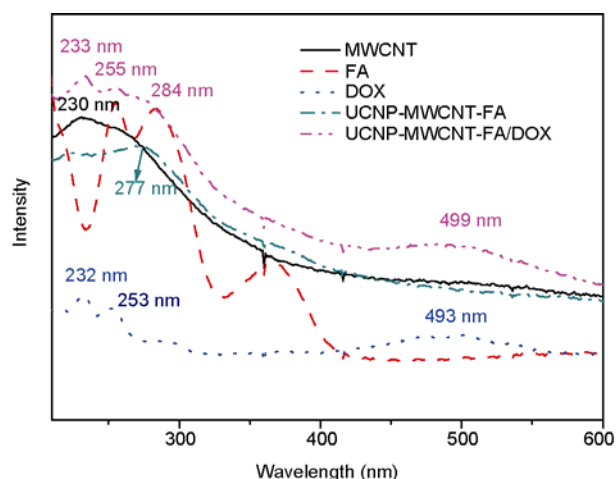


图 5 MWCNT(实线), 叶酸 FA(虚线), 阿霉素 DOX(点线), UCNP-MWCNT-FA (点划线)和 UCNP-MWCNT-FA/DOX 复合物(点虚线)的紫外吸收光谱

MWCNT 上, 形成了集靶向与治疗于一体的多功能纳米载体材料.

3.5 荧光光谱分析

图 6 给出了浓度为 1% 的油溶性 NaYF₄:Yb/Er 上转换发光纳米粒子的环己烷溶液和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 水分散液在 980 nm 激光二极管激发下的发射光谱. 由图可见, NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子有三个发射峰(图 6(a)), 分别位于 527, 550 和 660 nm, 对应于铒离子的 $^4H_{11/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$, $^4S_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$ 和 $^4F_{9/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$ 辐射跃迁^[15]. 而 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 的发射光谱(图 6(b))中同样出现了这三个发射峰, 其发光强度有所减弱, 但仍具有较强的发光, 进一步证明

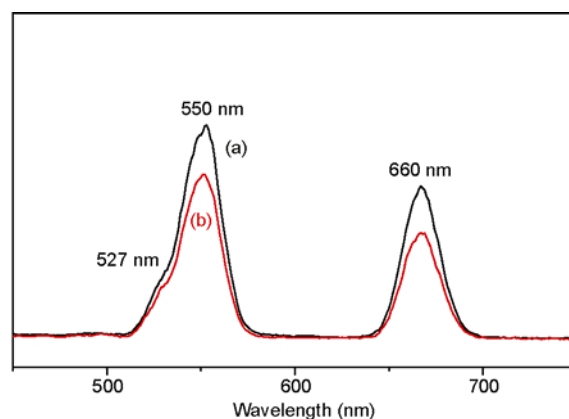


图 6 NaYF₄:Yb, Er 纳米粒子(a)和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 复合物(b)的荧光发射光谱

NaYF₄:Yb/Er 纳米粒子成功地负载在多壁碳纳米管的表面上, 为该载体在肿瘤的靶向检测中的应用提供了基础.

3.6 细胞成像实验

图 7 是所制备的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 复合纳米材料分别与宫颈癌 HeLa 细胞(a)和人肺纤维 HLF 细胞(b)共孵育 1 h 后在 980 nm 激发下的共聚焦显微镜图. 从图 7(a)可以看出, 在 HeLa 细胞中能够检测到很强的绿色荧光, 而在对比实验中, HLF 细胞显示出非常弱的绿色荧光(如图 7(b)), 说明 HLF 细胞对 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 的吞噬很少, 导致了细胞内绿色荧光非常弱. 这主要是由于叶酸分子的靶向作用, 因为 HeLa 细胞为叶酸受体高表达的实体肿瘤细胞, 而 HLF 细胞为叶酸受体低表达, 通过叶酸受体的介导作用, 修饰有叶酸分子的复合纳米材料优先被 HeLa 细胞所吞噬, 显示了其在肿瘤细胞的早期检测中较好的应用前景.

3.7 载药量及药物释放曲线

根据紫外吸收光谱计算, 1 mL NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 的水分散液中含有 28 μ g DOX, 载药量为 28 μ g DOX/10 μ g MWCNT. 图 8 给出了所制备的载药体系在 pH 值为 7.4 和 5.5 条件下的释放曲线, 从图中可以看出在 pH 值为 5.5 条件下阿霉素的释放速率明显高于 pH 值为 7.4 条件下的释放速率, 这主要是因为酸性质子化的环境下, 药物分子与碳

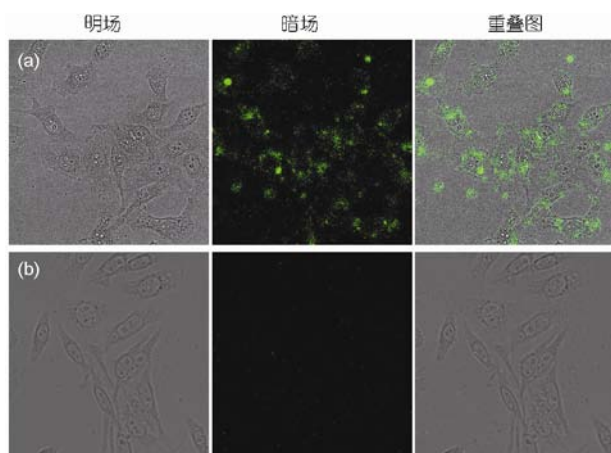


图 7 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 复合纳米材料分别与 HeLa 细胞(a)和 HLF 细胞(b)共孵育 1 h 后在 980 nm 激发下的共聚焦显微镜图

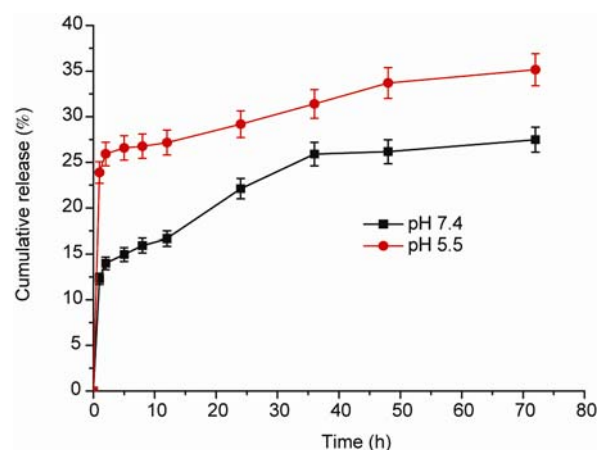


图 8 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 纳米体系在 pH 值为 7.4 和 5.5 条件下阿霉素的释放曲线, 释放介质为 PBS, 37 $^{\circ}$ C

纳米管之间的 π - π 作用力降低, 有利于阿霉素的脱附^[16]. 由此证明我们所制备的载药体系 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 在接近中性的血液中(pH 7.4)的传输比较稳定, 而在弱酸性的癌细胞中能够很好地释放, 从而使载药体系的靶向性更强.

3.8 细胞毒性

采用 MTT 法研究 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 负载抗肿瘤药物阿霉素前后对 HeLa 细胞增殖的影响. HeLa 细胞分别在含有 0.05—0.2 mg/mL NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 的培养基中孵育 24 h, 如图 9 所示, 与 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 相比, NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 负载抗肿

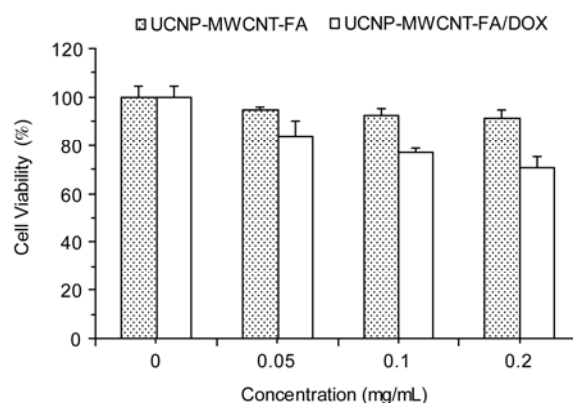


图 9 HeLa 细胞分别与不同浓度的 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 和 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA/DOX 孵育 24 h 后的细胞存活率

瘤药物阿霉素后对 HeLa 细胞增殖的影响明显. 表明 NaYF₄:Yb/Er-MWCNT-FA 负载抗肿瘤药物阿霉素后对 HeLa 细胞的杀伤能力明显增强, 显示了其在肿瘤细胞的治疗中较好的应用前景.

4 结论

通过化学键作用制备了叶酸修饰的 NaYF₄:Yb/

Er-MWCNT 复合纳米材料, 并对其进行了结构和形貌表征, 细胞成像实验表明所制备的复合材料能够有效地早期检测出叶酸受体高表达的宫颈癌 Hela 细胞. 同时, 通过 π - π 堆积作用将抗肿瘤药物阿霉素负载在该复合材料上, 与体液环境相比, 该载药体系在肿瘤细胞酸性环境下具有较快的药物释放速率. 所制备的此多功能纳米复合体系集靶向检测与治疗于一体, 在肿瘤细胞的检测和治疗中将会有很大的应用前景.

致谢 本工作得到了国家自然科学基金(50902100 & 51072026)和吉林省科技发展计划项目(20090528)的资助, 特此感谢.

参考文献

- 1 Pantarotto D, Singh R, McCarthy D, Erhardt M, Briand JP, Prato M, Kostarelos K, Bianco A. Functionalized carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43: 5242–5246
- 2 Liu Z, Fan AC, Rakhra K, Sherlock S, Goodwin A, Chen XY, Yang QW, Felsner DW, Dai HJ. Supramolecular stacking of doxorubicin on carbon nanotubes for *in vivo* cancer therapy. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 7668–7672
- 3 Kam NWS, O'Connell M, Wisdom JA, Dai HJ. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proceed National Acad Sci USA*, 2005, 102: 11600–11605
- 4 Gannon CJ, Cherukuri P, Yakobson BI, Cognet L, Kanzius JS, Kittrell C, Weisman RB, Pasquali M, Schmidt HK, Smalley RE, Curley SA. Carbon nanotube-enhanced thermal destruction of cancer cells in a noninvasive radiofrequency field. *Cancer*, 2007, 110 (12): 2654–2665
- 5 Ali-Boucetta H, Al-Jamal KT, McCarthy D, Prato M, Bianco A, Kostarelos K. Multiwalled carbon nanotube-doxorubicin supramolecular complexes for cancer therapeutics. *Chem Commun*, 2008, 4: 459–461
- 6 Pastorin G, Wu W, Wieckowski S, Briand JP, Kostarelos K, Prato M, Bianco A. Double functionalisation of carbon nanotubes for multimodal drug delivery. *Chem Commun*, 2006, 11: 1182–1184
- 7 Kam NWS, Liu Z, Dai HJ. Functionalization of carbon nanotubes via cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12492–12493
- 8 Zhang XK, Meng LJ, Lu QH, Fei ZF, Dyson PL. Targeted delivery and controlled release of doxorubicin to cancer cells using modified single wall carbon nanotubes. *Biomaterials*, 2009, 30, 6041–6047
- 9 Chatterjee DK, Rufalnah AJ, Zhang Y. Upconversion fluorescence imaging of cells and small animals using lanthanide doped nanocrystals. *Biomaterials*, 2008, 29 (7): 937–943
- 10 Xiong LQ, Chen ZG, Yu MX, Li FY, Liu C, Huang CH. Synthesis, characterization, and *in vivo* targeted imaging of amine-functionalized rare-earth up-converting nanophosphors. *Biomaterials*, 2009, 30: 5592–5600
- 11 Wang M, Mi CC, Wang WX, Liu CH, Wu YF, Xu ZR, Mao CB, Xu SK. Immunolabeling and NIR-excited fluorescent imaging of hela cells by using NaYF₄:Yb,Er upconversion nanoparticles. *Acs Nano*, 2009, 3: 1580–1586
- 12 Shen J, Sun LD, Yan CH. Luminescent rare earth nanomaterials for bioprobe applications. *Dalton Trans*, 2008, 42: 5687–5697
- 13 Li ZQ, Zhang Y. An efficient and user-friendly method for the synthesis of hexagonal-phase NaYF₄:Yb, Er/Tm nanocrystals with controllable shape and upconversion fluorescence. *Nanotechnology*, 2008, 19: 345606
- 14 Zhang XK, Meng LJ, Wang XF, Lu QH. Preparation and cellular uptake of pH-dependent fluorescent single-wall carbon nanotubes. *Chem Eur J*, 2010, 16: 556–561
- 15 Li P, Peng Q, Li YD. Dual-mode luminescent colloidal spheres from monodisperse rare-earth fluoride nanocrystals. *Adv Mater*, 2009, 21: 1945–1948
- 16 Liu Z, Sun XM, Nakayama-Ratchford N, Dai HJ. Supramolecular chemistry on water-soluble carbon nanotubes for drug loading and delivery. *Acs Nano*, 2007, 1: 50–56

Functional nanomaterials of NaYF₄:Yb/Er- MWCNT: Synthesis, characterization and applications in targeted diagnosis and therapy of tumor cell

CHEN QingTao^{1,3}, CHEN FengHua², LIU GuiXia¹, DONG XiangTing¹ & WANG JinXian¹

1 School of Chemistry and Environmental Engineering, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022, China

2 School of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China

3 Suzhou Institute of Nano-tech and Nano-bionics, Chinese Academy of Science, Suzhou 215123, China

Abstract: NaYF₄:Yb,Er-MWCNT-FA composite nanomaterials were obtained by conjugating the carbon nanotubes with folic acid and 2,3-dimercaptosuccinic acid functionalized NaYF₄:Yb,Er nanoparticles via an amide bond. Their morphology, structures, fluorescent and target imaging properties were characterized by means of TEM, XRD, UV-Vis, PL and confocal laser scanning microscopy (CLMS). The results of CLMS demonstrated that the functional composites had a high effectiveness to detect cancerous cell lines overexpressing the folate receptor (Hela cell) from normal cells (HLF cell) by tracing the fluorescence imaging with high fidelity. Furthermore, DOX was successfully loaded to the prepared NaYF₄:Yb,Er-MWCNT-FA nanomaterials mainly through noncovalent π - π interactions, which had obvious antitumor activities and achieved targeted diagnosis and therapy of tumor cell simultaneously.

Keywords: nanometer, NaYF₄:Yb/Er, folic acid, carbon nanotube, doxorubince