

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.03.007

# 新型酸响应聚集型金纳米粒子制备与光热性能

汪翔, 孙天赐, 肖正昊, 王慧庆

(合肥工业大学 化学与化工学院, 安徽 合肥 230009)

**摘要:**文章合成了一种新型 pH 敏感的金纳米粒子(gold nanoparticles, Au NPs),通过表面修饰亲水链在酸性条件下的解离引发聚集提高金纳米粒子在近红外区的吸收能力。首先合成末端巯基的原酸酯亲水链,并修饰到原位还原合成的金纳米表面获得 POE-Au NPs。透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)观察到在中性条件下金纳米粒子呈平均粒径 5 nm 单分散状态,在模拟肿瘤微环境 pH=5.5 酸性条件下,其表面修饰的聚乙二醇(PEG)段从原酸酯处触发断裂而游离,使得金纳米粒子聚集形成几百纳米团簇。光热性能测试结果表明,pH 响应性聚集可以使得 POE-Au NPs 的光热转换效率达到 58.8%,明显高于传统的无 pH 响应性的 PEG-Au NPs。此外,细胞实验结果表明,POE-Au NPs 具有良好的生物安全性。

**关键词:**金纳米粒子(Au NPs);pH 敏感性;光热;原酸酯;聚集

中图分类号:O63

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2024)03-0329-05

## Preparation and photothermal properties of acid-triggered assembled gold nanoparticles

WANG Xiang, SUN Tianci, XIAO Zhenghao, WANG Huiqing

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

**Abstract:** Here novel pH-sensitive gold nanoparticles(Au NPs) were synthesized, their adsorption capacity in the near-infrared region was improved by self-aggregation via their surface decorated hydrophilic chain dissociated under acidic conditions. Firstly, the ortho ester molecule with the end of the S-H bond was prepared and then decorated onto gold nanoparticles(POE-Au NPs). POE-Au NPs exhibited monodispersity with average particle size of 5 nm in neutral pH aqueous solution under transmission electron microscope(TEM), while under acidic conditions of pH 5.5 in simulated tumor microenvironment, the ortho ester bond broke and the PEG chains were dissociated from the Au NPs, which induced the Au NPs to aggregate into clusters of hundred nanometers. The photothermal property test showed that the photothermal conversion efficiency of POE-Au NPs reached 58.8% in acidic conditions, which was much higher than that of the traditional PEG-Au NPs. Furthermore, the cell safety evaluation confirmed the good biosafety of POE-Au NPs.

**Key words:** gold nanoparticles(Au NPs); pH-sensitive; photothermal; ortho ester; aggregation

## 0 引言

近红外光热治疗肿瘤是将有光热转换功能的纳米材料注射聚集于肿瘤组织,在外部近红外光

源的照射下材料将光能转化为热能来杀死癌细胞的治疗方法<sup>[1]</sup>。近红外光拥有穿透组织深度深、衰减弱和对组织损伤小等优点<sup>[2]</sup>。此外,近红外光还能实现对肿瘤区域照射,达到最大限度地减

收稿日期:2020-09-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(22171067)

作者简介:汪翔(1994—),男,安徽宣城人,合肥工业大学硕士生;

王慧庆(1983—),女,安徽安庆人,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:huiqing.wang@hfut.edu.cn.

少副作用的效果<sup>[3]</sup>。金、银、铂、钯等贵金属材料是目前近红外治疗研究最多的材料之一。其中金纳米粒子(gold nanoparticles, Au NPs)因其生物条件下稳定性好,使其成为研究最多的光热传导材料<sup>[4]</sup>,也是有前途的肿瘤光热治疗剂<sup>[5]</sup>。其光热治疗效果与尺寸有关,只有尺寸大于 50 nm 的金纳米粒子才有强烈的近红外吸收。但与大颗粒相比,小尺寸金纳米粒子在血液中停留时间更长,更容易进入肿瘤组织。为了解决上述矛盾,目前已开发许多将金纳米粒子组装成新型功能材料技术<sup>[6]</sup>,例如通过肿瘤局部微环境刺激响应(氧化还原响应<sup>[7]</sup>、pH 响应<sup>[8]</sup>或特异性酶<sup>[9]</sup>)诱导该粒子聚集引起越来越多的研发兴趣。

与正常组织相比较,肿瘤部位呈酸性微环境。本文合成了 pH 响应性原酸酯亲水链,并将其修饰到金纳米粒子表面,制备新型酸性响应聚集型金纳米粒子材料。在中性环境下金纳米粒子稳定分散,而在酸性环境下,原酸酯键断裂、亲水链解离、疏水基团暴露,引起金纳米粒子的聚集,并呈更大尺寸团簇,以提升金纳米对近红外的吸收能力。对比研究了这种酸敏感修饰和传统无响应性修饰的金纳米粒子的光热效率。本文方法可以拓展到其他肿瘤光热治疗纳米材料上,为提高肿瘤光热治疗效果提供新策略。

## 1 实验部分

### 1.1 实验原料

原甲酸三甲酯、3-氨基-1,2-丙二醇、三氟乙酸乙酯、对甲苯磺酸一水合物、聚乙二醇单甲醚、氯金酸、溴代异丁酰溴均购自阿拉丁生化科技股份有限公司;碳酸氢钠、氯化钠、硼氢化钠均购自国药集团化学试剂有限公司。

化学结构采用安捷伦 VNMR S600 型核磁共振氢谱仪(proton nuclear magnetic resonance, <sup>1</sup>H NMR)进行测试;样品形貌结构采用日本 JEM-2100F 型场发射透射电子显微镜(field emission transmission electron microscope, FETEM)分析。

### 1.2 实验过程

#### 1.2.1 pH 敏感原酸酯亲水链的合成

pH 敏感原酸酯亲水链的合成是根据文献<sup>[10]</sup>的方法稍加改动,具体过程如图 1 所示。

在氮气保护下,向 120 mL 3-氨基-1,2-丙二醇(18.80 g, 0.21 mol)的 DCM 溶液中滴加三氟乙酸乙酯(34.30 g, 0.24 mol),反应 4 h,蒸发溶剂,

残液溶解于 200 mL 乙酸乙酯中用饱和 KHSO<sub>4</sub> 和 NaCl 洗涤,经 MgSO<sub>4</sub> 干燥获得产物 P1。

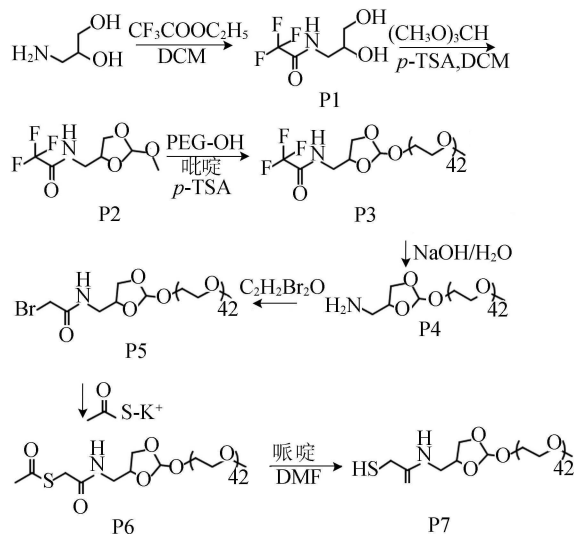


图 1 原酸酯亲水链的合成过程示意图

将 P1 (13.50 g, 72.15 mmol)与原甲酸三甲酯(34.89 g, 0.33 mol)溶解于 110 mL DCM 后,加入微量对甲苯磺酸(*p*-TSA),室温下反应 6 h,除去溶剂后溶于 250 mL 乙酸乙酯中,用饱和碳酸氢钠和盐水依次洗涤,用 MgSO<sub>4</sub> 干燥获得产物 P2。

将上述 P2(3 g, 13 mmol)溶于 30 mL 甲苯,加入 PEG-OH (16.3 g, 3.2 mmol), *p*-TSA (0.025 g, 0.13 mmol),吡啶(0.13 mL, 1.5 mmol),110 °C 回流过夜,冷却到室温后与过量冷乙醚混合,过滤,真空干燥获得产物 P3。

将 P3(6.0 g, 1.0 mmol)溶解于 30 mL THF,在 0 °C 下逐滴加入 30 mL 4% NaOH 水溶液,常温下反应过夜,蒸发除去 THF 后用 DCM 萃取,用 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 干燥后过滤、浓缩,得到产物 P4。

将 P4 (3 g, 0.6 mmol)和三乙胺(200 mg, 2 mmol)在溶于 25 mL DCM 中,0 °C 条件下逐滴加入溴乙酰溴(0.37 g, 1.8 mmol)后反应 4 h,反应产物过滤后用 CHCl<sub>3</sub> 萃取剩余有机溶液,并用无水 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 干燥后浓缩得到 P5。

将 P5 (2.3 g, 0.1 mmol)和硫代乙酸钾(45.7 mg, 0.4 mmol)溶于 20 mL DMF,反应 24 h 后过滤、浓缩、干燥得到 P6。

将 P6(2.3 g, 0.1 mmol)溶于 6 mL DMF 为溶剂,在避光条件下加入 3 mL 吡啶进行切断反应,反应 24 h 后,过滤、浓缩、干燥得到末端为巯基的原酸酯亲水链 P7(POE-SH)。

#### 1.2.2 POE-Au NPs 和 PEG-Au NPs 的制备

用去离子水将 2.5 mL HAuCl<sub>4</sub> 溶液

(2.2 mg/mL) 稀释至 50 mL,在强力磁搅拌下加热至沸腾。随后将 2 mL 1% 柠檬酸钠溶液快速加入混合物中,继续煮沸直到溶液变为酒红色获得 Au NPs。将 1 mL Au NPs 与 5 mL PEG-SH (1 mg/mL) 或 POE-SH (1 mg/mL) 在 37 °C 以 150 r/min 搅拌速度下孵育 8 h 以上,获得 PEG-Au NPs 或 POE-Au NPs。合成过程如图 2 所示。

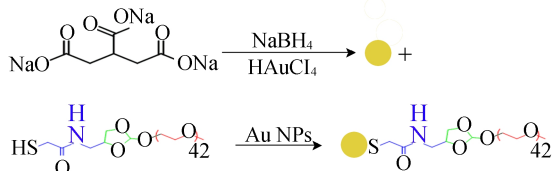


图 2 POE-Au NPs 的合成

### 1.2.3 光热性能测试

取上述 1 mL POE-Au NPs 和 PEG-Au NPs 溶液置于石英皿粒度池中,并将溶液 pH 值调整为 5.5 左右,静置 1 h 后,用近红外 808 nm 激光器,并以 2 W/cm<sup>2</sup> 的功率分别照射,用红外热成像仪器实时监测溶液的温度,每隔 30 s 记录 1 次相应温度。

### 1.2.4 细胞安全性测试

新型金纳米材料的生物安全性采用 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT) 法<sup>[11]</sup> 评估。将人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 以 5×10<sup>4</sup> 个/孔接种于含有细胞培养基的 96 孔板中,孵化 24 h 后,加入不同浓度的 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 后共培养 24 h。用 PBS 洗涤 3 次后在每个孔板中加入 50 μL MTT (1 mg/mL),继续培养 4 h。去除上清液后加入 100 μL DMSO 摇匀,用 Elx800 分光光度酶标仪 (BioTek, USA) 测定 570 nm 处的吸光值,计算相对细胞活性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 敏感原酸酯亲水链的<sup>1</sup>H NMR 谱图

本文设计合成的新型 pH 敏感原酸酯亲水链合成过程中系列产物的<sup>1</sup>H NMR 谱图如图 3 所示。

P1 的<sup>1</sup>H NMR 谱图如图 3a 所示,由图 3a 可知:δ=9.24×10<sup>-6</sup> 为仲胺的质子峰;δ=4.87×10<sup>-6</sup>、4.62×10<sup>-6</sup> 为 2 个羟基质子峰;δ=3.62×10<sup>-6</sup> 为次甲基吸收峰;δ 在 3.04×10<sup>-6</sup>~3.34×10<sup>-6</sup> 间为 2 个亚甲基吸收峰。

P2 的<sup>1</sup>H NMR 谱图如图 3b 所示,由图 3b 可知:δ 在 5.60×10<sup>-6</sup>~5.64×10<sup>-6</sup> 间为五元环上

原酸酯特征吸收峰;δ 在 4.29×10<sup>-6</sup>~4.36×10<sup>-6</sup> 间为五元环上次甲基吸收峰;δ 在 3.59×10<sup>-6</sup>~4.04×10<sup>-6</sup> 间为五元环外亚甲基吸收峰;δ 在 3.36×10<sup>-6</sup>~3.54×10<sup>-6</sup> 间为五元环上亚甲基吸收峰;δ 在 3.16×10<sup>-6</sup>~3.24×10<sup>-6</sup> 间为甲基吸收峰。

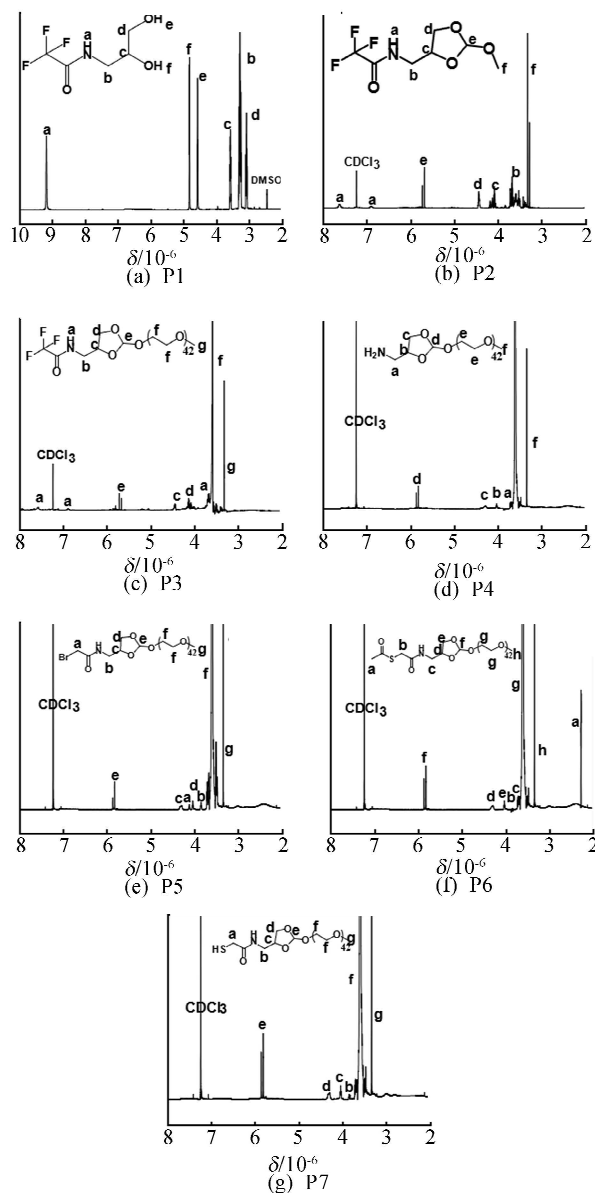


图 3 新型原酸酯亲水链合成系列产物的<sup>1</sup>H NMR 谱图

P3 的<sup>1</sup>H NMR 谱图如图 3c 所示,由图 3c 可知:δ=8.16×10<sup>-6</sup> 为仲胺质子峰,δ 在 5.84×10<sup>-6</sup>~5.92×10<sup>-6</sup> 间为五元环上原酸酯特征峰,表明五元环未被破坏;δ 在 3.52×10<sup>-6</sup>~3.78×10<sup>-6</sup> 间为五元环外 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O—质子峰,表明成功接上 PEG 链段。

P4 的<sup>1</sup>H NMR 谱图如图 3d 所示,由图 3d 可知:δ 在 5.84×10<sup>-6</sup>~5.87×10<sup>-6</sup> 间为五元环上原酸酯特征峰;δ 在 3.49×10<sup>-6</sup>~3.69×10<sup>-6</sup> 间

为五元环外  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ —的质子峰。

P5 的  $^1\text{H NMR}$  谱图如图 3e 所示,由图 3e 可知,  $\delta = 4.15 \times 10^{-6}$  为溴乙酰溴亚甲基峰,  $\delta$  在  $5.89 \times 10^{-6} \sim 5.97 \times 10^{-6}$  间为原酸酯特征峰。P6 的  $^1\text{H NMR}$  谱图如图 3f 所示,由图 3f 可知,  $\delta = 5.82 \times 10^{-6}$  原酸酯的特征峰仍然存在,  $\delta = 2.3 \times 10^{-6}$  为羰基处的甲基峰。P7 的  $^1\text{H NMR}$  谱图如图 3g 所示,由图 3g 可知,  $\delta = 5.82 \times 10^{-6}$  原酸酯特征峰保留,  $\delta = 2.3 \times 10^{-6}$  处的甲基峰消失,证明目标原酸酯亲水链的成功制备。

## 2.2 金纳米的形貌与 pH 响应性

用 TEM 观察 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 2 种金纳米粒子在不同 pH 值下的形貌和尺寸,如图 4 所示。

由图 4 可知,  $\text{pH} = 7.4$  时 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 金纳米粒子呈单分散的球形,尺寸在 5 nm 左右;而置于模拟肿瘤酸性( $\text{pH} = 5.5$ )微环境下 1 h 后,观察到 PEG-Au NPs 形态未发生改变(图 4c),POE-Au NPs 聚集成几百纳米的团簇,其原理如图 5 所示。在酸性条件下,金纳米表面修饰链从原酸酯键处断裂、亲水链段被切断,使得疏水性基团暴露出来,金纳米体从而聚集成更大尺寸的金纳米团簇。

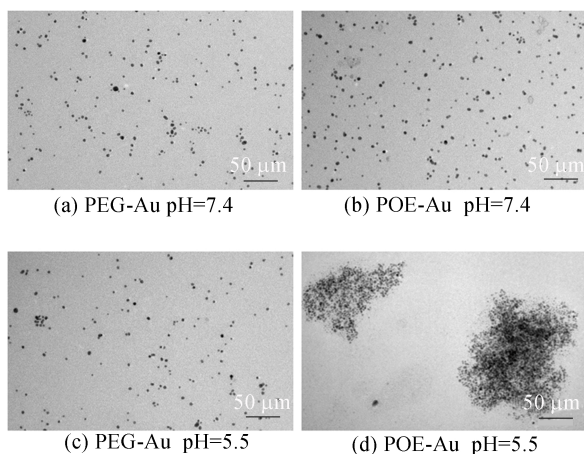


图 4 不同 pH 值条件下 PEG-Au 和 POE-Au 的 TEM 照片

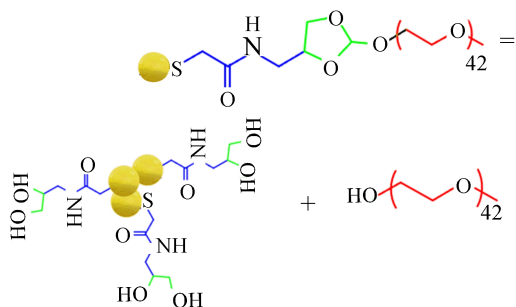


图 5 POE-Au NPs 酸响应聚集示意图

## 2.3 酸性下金纳米粒子的光热效应

将 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 2 种金纳米水溶液( $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ )调节  $\text{pH} = 5.5$ , 1 h 后用 808 nm 激光照射(辐照剂量  $2 \text{ W}/\text{cm}^2$ ),并记录照射时间与光热转化后的溶液升温 and 降温结果,如图 6 所示。从图 6 可以看出,在相同质量浓度、相同激光功率下,随着照射时间延长 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 均发生升温现象,在照射 15 min 后 PEG-Au NPs 水溶液温度升到峰值  $50.5 \text{ }^\circ\text{C}$ ,而 POE-Au NPs 水溶液温度能达  $58.7 \text{ }^\circ\text{C}$ ,根据公式<sup>[1]</sup>计算出光热转换效率从 47.6% 提高到了 58.8%。从而证实经原酸酯亲水链修饰后的金纳米粒子因酸响应性聚集对近红外区的吸收能力更强,表现出更加优异的光热性能。

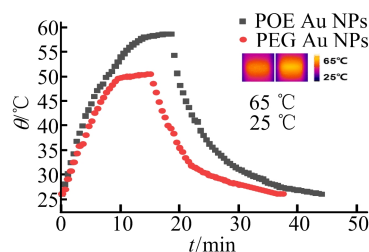


图 6 POE-Au NPs 与 PEG-Au NPs 水溶液的升降温曲线

## 2.4 生物安全性分析

本文进一步用 MTT 法评估了新型酸响应性金纳米材料的细胞安全性。将不同质量浓度(0、50、100、150、 $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ )的 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 2 种金纳米粒子与 HUVECs 细胞共培养时的细胞活性如图 7 所示。

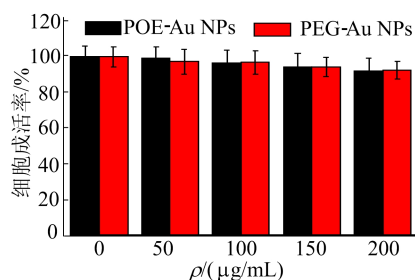


图 7 PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 的细胞毒性

由图 7 可知,当金纳米粒子的质量浓度高达  $200 \mu\text{g}/\text{mL}$  时,PEG-Au NPs 和 POE-Au NPs 2 种金纳米粒子的相对细胞活性仍然高于 92%,表明 2 种金纳米粒子均具有很高的细胞安全性。

## 3 结 论

本文合成了一种表面修饰了含酸敏感原酸酯  
(下转第 359 页)

由表1可知:本文设计比文献[5]面积减小57.44%,功耗降低93.19%;也比文献[6]面积减小56.51%,功耗降低93.06%;比文献[7]面积大1.81%,功耗降低36.28%,且解码的范围更大,准确性更高。

#### 4 结 论

本文通过对双相标记解码电路增加状态机以及计数器的复用,减少寄存器的使用,从而降低面积和功耗;通过增加六阶有限长单位冲激响应滤波器实时计算解码阈值,可解码的频率范围更大,提高解码准确性;通过设置错误检测机制提高电路的安全性。并增加了门控,在电路闲置时,关闭解码电路,进一步节约能耗。采用Synopsys公司的数字前端仿真工具VCS进行电路的仿真验证,成功对单个周期突变25%的数据、相邻周期增加或减少7.13%的连续13个数据解码。电路仿真后得到更好的面积和功耗表现。在USBPD 3.0协议芯片中使用可以提高对信号的解码能力,降低芯片的成本。

#### [参 考 文 献]

[1] 刘高鹏. 兼容USB PD3.0的快充控制系统研究与设计[D].

长沙:湖南大学,2019.

- [2] 阮志芳. USB Type-C 技术分析与应用[J]. 信息通信,2020(11):100-102.
- [3] 牛雨萌,焦继业,李晨. 基于FPGA的USB PD控制器的设计与实现[J]. 计算机与数字工程,2020,48(5):1238-1242.
- [4] DELSHADPOUR S, KULKARMI A, ZHANG X. A BMC analog and digital PHY for USB type-C power delivery[J]. Canadian Journal of Electrical and Computer Engineering, 2020,43(3):195-202.
- [5] 赵旺. 一种BMC码自适应解码系统:CN 208768080 U[P]. 2019-04-19.
- [6] 方侃飞,蔺智挺,赵建中. 面向USB PD 3.0协议的新型BMC解码电路设计[J]. 信息技术,2020,25(3):14-17.
- [7] 张万荣,王飞虎. 新型PD协议芯片BMC解码电路的设计与验证[J]. 电子技术应用,2021,47(11):29-32,38.
- [8] WANG T, ZHANG L, FANG G H, et al. Fault detection based on FIR filters with variable discount factors for industrial robot drive systems[J]. Wuhan University Journal of Natural Sciences,2021,13(2):165-173.
- [9] 郝少帅,杨玉华,王淑琴. 基于FPGA的高精度采集系统的研究与实现[J]. 电子测量技术,2020,43(19):154-158.

(责任编辑 张 镛)

#### (上接第332页)

基亲水链的金纳米粒子POE-Au NPs。TEM显示,POE-Au NPs在pH=5.5条件下会因表面原酸酯键断裂、亲水链的解离、疏水基团暴露而从5 nm单分散体聚集成几百纳米的团簇。光热效果测试表明,酸响应聚集后的POE-Au NPs显示出比单分散性PEG-Au NPs更高的光热转换效率,此外细胞安全性评估结果证实POE-Au NPs具有良好的生物安全性。这种新型酸响应聚集性金纳米粒子的设计制备为开发高效抗肿瘤光热治疗材料提供了新策略。

#### [参 考 文 献]

- [1] 武霖,李卓妍,张韞,等. 光热纳米材料在肿瘤治疗中的研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版),2020,30(3):203-208.
- [2] LI Z C. Cancer theranostics with near-infrared light-activatable multimodal nanoparticles [J]. Accounts of Chemical Research,2011,44(10):947-956.
- [3] 李治,千维娜,魏思敏,等. 光热转换纳米材料在肿瘤光热治疗中的应用[J]. 激光与光电子学进展,2020,57(17):52-68.
- [4] CHEN H, SHAO L, LI Q, et al. Gold nanorods and their plasmonic properties[J]. Chemical Society Reviews, 2013, 42(7):2679-2724.
- [5] 凌云云,夏云生. 金纳米复合材料:制备、性质及其癌症诊疗

应用[J]. 物理化学学报,2020,36(9):80-94.

- [6] HUSSAIN I, ZHANG H, BRUST M, et al. Emulsions-directed assembly of gold nanoparticles to molecularly-linked and size-controlled spherical aggregates[J]. J Colloid Interface,2010,350(1):368-372.
- [7] WANG J Q, SUN X R, MAO W W, et al. Tumor redox heterogeneity responsive prodrug nanocapsules for cancer chemotherapy [J]. Advanced Materials, 2013, 25 (27): 3670-3676.
- [8] LING D, PARK W, PARK S J, et al. Multifunctional tumor pH-sensitive self-assembled nanoparticles for bimodal imaging and treatment of resistant heterogeneous tumors[J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(15): 5647-5655.
- [9] HU Q Y, SUN W J, LU Y, et al. Tumor microenvironment-mediated construction and deconstruction of extracellular drug-delivery depots [J]. Nano Letters, 2016, 16 (2): 1118-1126.
- [10] NAM J, WON N, JIN H, et al. pH-induced aggregation of gold nanoparticles for photothermal cancer therapy [J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(38): 13639-13645.
- [11] 吴頔,樊森,张露云,等. 金纳米星/双锥的可控制备、光热转换及体外光热治疗[J]. 发光学报,2018,39(3):280-286.

(责任编辑 闫杏丽)