

磁性碳纳米管的制备及其在肿瘤细胞光热疗与磁共振成像中的应用

王晓驰 景亚 张光辉 左振宇

Preparation of magnetic carbon nanotubes and their application in tumor cell photo-thermal therapy and magnetic resonance imaging

WANG Xiaochi, JING Ya, ZHANG Guanghui, ZUO Zhenyu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20230728.001>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

异质结材料用于肿瘤诊断与治疗的研究进展

Recent progress of heterojunction materials for tumor diagnosis and treatment

复合材料学报. 2021, 38(6): 1703–1723 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20210118.002>

$\text{SnO}_2\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 复合材料应用于碳纳米管集流体对锂离子电池性能的影响

Effect of $\text{SnO}_2\text{-Fe}_2\text{O}_3$ composites on performance of carbon nanotubes current collectors for lithium-ion batteries

复合材料学报. 2019, 36(7): 1753–1760 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20180927.001>

静电纺丝法制备多功能聚乙烯醇微球及其性能和应用

Preparation of multifunctional polyvinyl alcohol microspheres by electrospinning and its properties and application

复合材料学报. 2021, 38(6): 1960–1973 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20200928.002>

Fe_3O_4 -碳纳米管/聚偏氟乙烯复合材料的制备与性能

Preparation and properties of Fe_3O_4 -carbon nanotubes/polyvinylidene fluoride composite

复合材料学报. 2018, 35(12): 3247–3252 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20180705.004>

碳纳米管/油酸复合物制备的纳米流体导电与润湿性能

Electroconductivity and wettability of nanofluids prepared by carbon nanotubes/oleic acid composite

复合材料学报. 2020, 37(10): 2582–2589 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20200313.001>

纳米 Fe_3O_4 /黑曲霉磁性微球对U(VI)的吸附性能及机制

Adsorption characteristic and mechanism of Uranium (VI) by nano Fe_3O_4 /Aspergillus niger magnetic microspheres

复合材料学报. 2017, 34(12): 2826–2833 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20170303.003>



扫码关注微信公众号，获得更多资讯信息

磁性碳纳米管的制备及其在肿瘤细胞光热疗与磁共振成像中的应用



分享本文

王晓驰, 景亚, 张光辉, 左振宇*

(陕西中医药大学 药学院, 咸阳 712046)

摘要: 肿瘤是目前最主要的致死原因之一, 实现对肿瘤的精准和非侵入性高效诊疗具有重要意义。以具有极高长径比、易于穿透细胞膜并具有优异生物相容性的碳纳米管 (CNTs) 作为载体, 以乙酰丙酮铁为铁源, 通过溶剂热法在其表面原位生长具有超顺磁特性的四氧化三铁纳米粒子 (Fe_3O_4 NPs), 制备了具有优异水分散稳定性的磁性碳纳米管复合纳米材料。结果表明该磁性碳纳米管具有较高的近红外光热转换性能, 在 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下 808 nm 激光照射 10 min 即可升温至 48.6°C , 且具有良好的光热稳定性。细胞及成像实验结果表明该复合纳米材料具有较好的生物相容性并对人宫颈癌细胞 (HeLa) 具有优异的光热杀伤效果, 在体外模拟肿瘤微环境中磁共振成像 (MRI) T_2 弛豫率 r_2 可达 $215.61 \text{ mmol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, 表明制备的磁性碳纳米管具有出色的生物安全性、磁性和光热特性, 有望用于靶向的肿瘤光热疗与磁共振成像的一体化诊疗。

关键词: 碳纳米管; 磁性 Fe_3O_4 纳米粒子; 光热治疗; 磁共振成像; 肿瘤细胞

中图分类号: R730.5; TB383.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-3851(2023)12-6545-09

Preparation of magnetic carbon nanotubes and their application in tumor cell photo-thermal therapy and magnetic resonance imaging

WANG Xiaochi, JING Ya, ZHANG Guanghui, ZUO Zhenyu*

(College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

Abstract: Tumors are one of the leading causes of death in the world, and achieving precise and non-invasive efficient diagnosis and treatment of tumors is of great significance. We used carbon nanotubes (CNTs) with extremely high aspect ratio, easy to penetrate cell membrane and excellent biocompatibility as carriers, and acetylacetone iron as iron source, to synthesize magnetic carbon nanotube composite nanomaterials with excellent water dispersion stability by in situ growing superparamagnetic ferric oxide nanoparticles (Fe_3O_4 NPs) on their surface through solvothermal method. The results showed that the magnetic carbon nanotubes had high near-infrared photo-thermal conversion performance, and could reach 48.6°C in 10 min under 808 nm laser irradiation at a concentration of $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, and had good photothermal stability. Cell and imaging experiments showed that the composite nanomaterials had good biocompatibility and excellent photothermal killing effect on human cervical cancer cells (HeLa). In vitro simulated tumor microenvironment, the magnetic resonance imaging (MRI) T_2 relaxation rate r_2 of the magnetic carbon nanotubes was up to $215.61 \text{ mmol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, indicating that the prepared magnetic carbon nanotubes had outstanding biosafety, magnetism and photothermal properties, and were expected to be applied to the integration of magnetic targeted tumor photothermal therapy and magnetic resonance imaging.

Keywords: carbon nanotubes; magnetic Fe_3O_4 nanoparticles; photothermal therapy; magnetic resonance imaging; tumor cells

收稿日期: 2023-05-15; 修回日期: 2023-07-04; 录用日期: 2023-07-13; 网络首发时间: 2023-07-28 16:10:56

网络首发地址: <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20230728.001>

基金项目: 陕西省重点研发计划一般项目 (2021SF-366); 陕西省教育厅重点项目 (20JS033)

Science and Technology Department of Shaanxi Provincial Government (2021SF-366); Education Department of Shaanxi Provincial Government (20JS033)

通信作者: 左振宇, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为药物分析、药物分离新方法 E-mail: zuozhenyu666@sina.cn

引用格式: 王晓驰, 景亚, 张光辉, 等. 磁性碳纳米管的制备及其在肿瘤细胞光热疗与磁共振成像中的应用 [J]. 复合材料学报, 2023, 40(12): 6545-6553.

WANG Xiaochi, JING Ya, ZHANG Guanghui, et al. Preparation of magnetic carbon nanotubes and their application in tumor cell photo-thermal therapy and magnetic resonance imaging[J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2023, 40(12): 6545-6553(in Chinese).

肿瘤是目前发病率和死亡率最高的疾病之一,而我国是世界上肿瘤发病率最高的国家,给国民健康带来极大危害^[1-3]。传统的肿瘤治疗手段,主要包括手术、化疗和放疗及联合治疗手段,其中,化疗是临床最常使用的方法,主要是使用一些具有较强毒性的药物小分子抑制肿瘤增生,但由于小分子药物存在代谢较迅速且在体内分布较广的缺点,通常会对患者造成严重的毒副作用和身心损伤,长期使用还会导致耐药性^[4-7]。近年来,人们发现肿瘤部位具有高渗透长滞留(EPR)效应,一些纳米颗粒会通过血液循环滞留在肿瘤部位^[8-10],因此,基于一些具有特殊光、电、热等性质的纳米材料在肿瘤部位的富集作用,发展新型的具有低毒副作用、非接触式疗法对于肿瘤精准治疗具有重要意义。

光热疗(PTT)作为一种新兴的非接触式肿瘤疗法,主要利用近红外光热转换材料将具有较高穿透深度的近红外光转化为热能,在肿瘤部位引发高热,进而杀死肿瘤细胞,抑制肿瘤增生,具有非侵入性、无毒副作用、无耐药性等优势^[11-14]。随着研究人员对纳米材料研究的逐渐深入,许多具有近红外光热转化特性的材料^[15],如碳基纳米材料^[16-18]、贵金属纳米材料^[19-21]、半导体聚合物^[22-24]、半导体量子点^[25-27]等受到广泛关注。其中,碳纳米材料,尤其是具有极高长径比、易于穿透细胞膜、生物相容性优异等特性的碳纳米管(CNTs),在肿瘤光热疗中备具有出色应用潜力^[28-29]。研究人员基于CNTs发展了不同的复合体系以增强其光热转换、药物负载等性能^[30-31],如纳米金修饰的CNTs^[32]、聚吡咯包覆CNTs^[33]等,通常进一步修饰肿瘤靶向因子如叶酸(Folate acid, FA)、RGD环肽(Cyclo(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys))等^[34],可以实现肿瘤主动靶向效果。

相对于主动靶向策略,磁靶向可改善其无法深入病灶组织深处的缺陷,且无需对纳米材料进行复杂的表面修饰^[35-36]。磁靶向策略通常以具有超顺磁特性的 Fe_3O_4 纳米粒子(NPs)作为载体,可将药物等功能组分高效递送至肿瘤部位^[37-39]。与此同时, Fe_3O_4 NPs还具有显著的 T_2 -加权磁共振成像(T_2 -MRI)效果^[14, 40-42],因此,可通过磁靶向实现靶向递送功能组分的同时通过MRI成像监测其体内分布规律。

因此,为了实现高效光热材料——CNTs的高速和稳定的靶向修饰,本文设计了磁靶向CNTs

复合体系,以期实现一体化的磁靶向肿瘤光热疗和磁共振成像。以羧化截短的多壁碳纳米管(MWNTs)作为载体和光热转换试剂,在其表面原位生长 Fe_3O_4 NPs后制得 Fe_3O_4 -MWNTs复合纳米材料($\text{M@Fe}_3\text{O}_4$),一方面能提高CNTs热转化效果,另一方面利用 Fe_3O_4 NPs提供潜在的磁靶向和 T_2 -MRI成像应用。通过TEM、XRD等确认了 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的结构与形貌,测试了其水分散稳定性和细胞相容性,并验证了该复合纳米材料对宫颈癌细胞的光热杀伤性能与在肿瘤微环境中的磁共振造影性能,为肿瘤诊疗一体化提供了新材料和新思路。

1 实验材料及方法

1.1 原材料

多壁碳纳米管(MWNTs,直径8~20 nm,长2~5 μm),中国科学院成都有机化学有限公司;水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、乙酰丙酮铁($\text{Fe}(\text{acac})_3$, 98%)、多聚甲醛($(\text{CH}_2\text{O})_n$)、三甘醇($\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{H}$, 99%),上海阿拉丁试剂有限公司;浓硫酸(H_2SO_4 , 98%)、浓硝酸(HNO_3 , 98%),西安安保化工有限公司;胎牛血清(FBS)、高糖细胞培养基(DMEM)和胰酶等细胞实验相关试剂购于Hyclone公司;WST-1、MTT、CCK-8和Calcein-AM/PI活细胞/死细胞双染试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)。实验使用的水均为超纯水,电导率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

1.2 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的制备

1 g MWNTs分散于60 mL混酸(浓硫酸:浓硝酸=3:1体积比)中,在超声波清洗仪中超声2 h,然后利用聚四氟乙烯滤膜抽滤并洗涤至中性。将制得的羧化截短的MWNTs重新分散于三甘醇中,加入一定量乙酰丙酮铁,加热至 220°C ,搅拌反应12 h,利用磁性分离沉淀,用乙醇洗涤沉淀至上清液无色,再用水洗涤3次,最后将沉淀重新分散于水中备用。

1.3 样品的性能及表征

1.3.1 材料表征

取5 μL $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 水分散液于63 μm 铜网(碳支持膜)上,室温下晾干用于TEM观察,使用透射电子显微镜(JEOL-2100, Japan)观察羧化截短CNTs和 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 表面 Fe_3O_4 NPs的形貌, Fe_3O_4 NPs粒径使用Image J(V1.41, NIH, USA)进行统计。使用紫外-可见吸收光谱仪(Lambda 35UV-vis, PerkinElmer, USA)测定材料的吸收光谱,使用X

射线光电子能谱仪 (XPS, Thermo Fisher ESCALAB-Xi+) 测试材料的元素种类和所处环境, 使用激光粒度仪 (Nano ZS90Zeta sizer, Malvern, UK) 测试材料的表面电荷, 使用酶标仪 (Biotek Instruments, Inc., USA) 测定细胞存活率, 使用共聚焦激光扫描显微镜 (Zeiss LSM 760, Germany) 测定细胞的存活状态。

1.3.2 性能测试

使用 808 nm 激光器 (长春新产业技术有限公司) 用于材料的光热特性和体外光热治疗研究, 酶标仪 (M200 PRO, Infinite) 用于测定细胞存活率时的吸光度。使用热电偶测量光热温度变化 (精确度 0.1℃, OMEGA engineering Inc.)。T₂ 磁共振造影性能在实验动物小核磁共振成像仪 (MiNiMR60, 22 MHz, (0.52±0.05) T, 纽迈) 上进行测试, 样品固定在 4% 琼脂中。

1.3.3 细胞实验

使用人宫颈癌细胞 HeLa 细胞系和人正常肝细胞 LO2 细胞 (ATCC, Manassas, VA) 进行细胞实验。细胞接种于含有 10% FBS 和 1% 抗生素 (青霉素 50 units·mL⁻¹, 链霉素 50 units·mL⁻¹) 的细胞培养基 (DMEM) 中, 在恒温 37℃ 和 5% CO₂ 培养箱中生长。在细胞毒性测试中, 向 96 孔板中每个孔中接种 1×10⁴ 个细胞并培养 24 h, 然后分别加入不同浓度的样品, 继续培养 24 h。然后用 PBS 清洗掉未进入细胞的样品, 加入新鲜培养基和 10 μL MTT 溶液, 继续培养 4 h, 然后利用酶标仪检测细胞存活率。

2 结果与讨论

2.1 材料表征

首先利用 TEM 对羧化截短的 CNTs 和 M@Fe₃O₄ 进行表征, 如图 1 所示, 图 1(a) 为羧化截短后的 MWNTs, 长度约为 1 μm, 表面较粗糙, 主要是由于在混酸氧化过程中破坏了其表面完整性, 在其表面引入了大量功能基团如羧基、羟基等。在其表面原位生长 Fe₃O₄ NPs 后 (图 1(b)), Fe₃O₄ NPs 均匀地分布在 CNTs 表面, 粒径主要分布在 6~12 nm 范围 (图 1(c)、图 1(d)), 而且经过超声分散制备透射样, 在 CNTs 周围并无单独粒子分散, 表明 Fe₃O₄ NPs 在 CNTs 表面结合的较稳定。Zeta 电位测试表明, 羧化截短的 CNTs 表面电势为 (-23.5±0.3) mV, 这进一步证明了混酸处理过程在 CNTs 表面引入了大量的含氧官能团, 而修饰后

的 CNTs 降至 (-53.8±2.6) mV, 表明制备的复合 CNTs 表面同样富含大量亲水官能团, 使其在水中具有优异的分散稳定性 (图 1(e))。在放置 1 周之后, 其仍具有出色的分散稳定性, 并未有明显沉淀出现。而且, 复合 CNTs 在磁铁作用下经过 15 s 左右即可迅速聚集在瓶内壁靠近磁铁的一侧, 表明其具有优异的顺磁性 (图 1(f))。在反复利用磁铁使其团聚和分散之后, 制备的 M@Fe₃O₄ 仍具有出色的分散稳定性。图 1(g) 表明 M@Fe₃O₄ 水分散液即使在放置 5 天后仍保持出色的分散均匀性, 无明显沉淀出现, 进一步证明了所制备的 M@Fe₃O₄ 具有较好的水分散性。

为了进一步确定 M@Fe₃O₄ 的表面物质组成, 测试了其吸收光谱、XRD 和 XPS。如图 2(a) 所示,

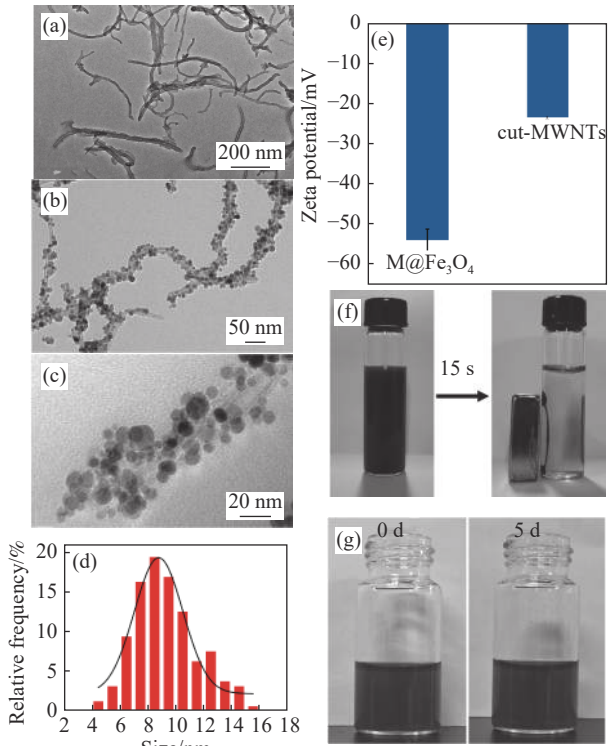


图 1 (a) 羧化截短的多壁碳纳米管 (cut-MWNTs) 的 TEM 图像; (b) Fe₃O₄-MWNTs 复合纳米材料 (M@Fe₃O₄) 的 TEM 图像; (c) 局部放大的 M@Fe₃O₄ TEM 图像; (d) M@Fe₃O₄ 表面 Fe₃O₄ 纳米粒子粒径统计 (200 个颗粒); (e) cut-MWNTs 和 M@Fe₃O₄ 的表面 zeta 电势; (f) M@Fe₃O₄ 水分散液在磁场作用下聚集; (g) M@Fe₃O₄ 水分散液放置 5 天后的光学照片

Fig. 1 (a) TEM image of carboxylated truncated multi-walled carbon nanotubes (cut-MWNTs); (b) TEM image of Fe₃O₄-MWNTs (M@Fe₃O₄); (c) TEM image of locally magnified M@Fe₃O₄; (d) Particle size statistics of iron tetroxide nanoparticles on the surface of M@Fe₃O₄ (200 particles); (e) Surface zeta potential of cut-MWNTs and M@Fe₃O₄; (f) M@Fe₃O₄ aqueous dispersions aggregated under magnetic field; (g) Photographs of M@Fe₃O₄ aqueous dispersion at 0 day and 5 days

紫外可见吸收光谱测试结果显示羧化截短的 CNTs 具有较宽的吸收, 最大吸收波长在 280 nm 左右, 而在原位生长 Fe_3O_4 NPs 后, 其在近红外区域的吸收明显提高, 最大吸收波长出现一定偏移, 达到 324 nm 左右, 这是由于 CNTs 表面负载有大量 Fe_3O_4 NPs 导致的。此外, $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 在近红外区域吸收有明显提升, 表明其近红外光热转换性能可能有所增强。XRD 测试结果 (图 2(b)) 显示 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 主要衍射峰与 Fe_3O_4 NPs 标准卡片 (PDF#19-0629) 相对应, 位于 30.09° 、 35.42° 、 43.05° 、 53.39° 、 56.94° 、 62.52° 处左右的尖锐峰可分别归属于 Fe_3O_4 NPs 的 (220)、(311)、(400)、(422)、(511)、(440) 晶面。XPS 测试表明复合 CNTs 表面 Fe 主要有 3 种结合态 (图 2(c)、图 2(d))。上述测试表明了 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的成功制备。图 2(e) 测试了 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的磁饱和强度为 31.905 emu/g, 表明所制备的 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 具有较好的磁响应性。

2.2 光热性能研究

利用 808 nm 激光器对材料的光热转换性能进行了研究, 如图 3 所示。首先对比了在不同浓度和激光辐照剂量下 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的光热转换性能。结果显示, $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 仅在 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的激光功率下, 经过 15 min 照射即可升温至 48.5°C , 而肿瘤细胞通常在超过 42°C 就会发生不可逆的凋亡。在 $150 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的条件下温度更是达到 55.3°C , 而且表现出明显的激光功率和浓度依赖性 (图 3(a))。在后续的实验中, 选用 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的参数。随后对比了在表面生长 Fe_3O_4 NPs 前后 CNTs 的光热性能, 在 808 nm 激光器辐照下, 在 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下, 经过 10 min 光照之后, 羧化截短的 CNTs 升温至 45.9°C , 而 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的升温幅度则为 48.6°C , $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 升温幅度仅略高于未修饰 CNTs, 但由于 Fe_3O_4 NPs 密度高于 CNTs, 因此在相同的质量浓度下, $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 有效光热转换组分远低于未修饰 CNTs, 这表明在表面修饰 Fe_3O_4 NPs 后, CNTs 光热转换性能有明显提升, 这可能是由于 Fe_3O_4 NPs 改变了 CNTs 的表面结构, 一方面拓宽了 CNTs 的吸收光谱, 与紫外吸收光谱测试结果相对应, 另一方面提高了 CNTs 对吸收光的消光系数。最后, 测试了 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的升温-降温循环, 发现所制备的 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 在经过 6 次升温-降温循环之后仍具有较好的光热性能, 表明其具有良好

的光热稳定性。

2.3 细胞实验

在体外细胞实验中, 对 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 的生物安全性进行了研究, 使用 HeLa 宫颈癌细胞和人正常肝细胞 (LO2 细胞) 通过 MTT 法进行生物相容性测试 (图 4)。随着材料浓度的升高, 正常细胞和肿瘤细胞的存活率略有下降, 但即使在 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度下, 经过 24 h 和 48 h 共孵育之后细胞存活率仍均超过 85%, 结果表明, 所制备的羧化截短的碳纳米管和 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 具有较好的生物相容性。

研究了不同浓度 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 对 HeLa 肿瘤细胞的光热治疗效果, 如图 5 所示, 在肿瘤细胞与不同浓度的材料共孵育之后, 利用功率密度为 $1.5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的 808 nm 激光进行照射, 随着材料浓度的提高, 细胞存活率有明显下降, 在材料浓度为 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 细胞存活率低至 46.2%。在相同条件下, 羧化截短的 CNTs 对肿瘤细胞杀伤效率则仅为 32.4%, 上述结果表明 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 复合材料对肿瘤细胞的光热杀伤效果强于普通 CNTs, 与材料光热性能测试结果相一致。这进一步证明了材料具有较好的水分散性, 制备的 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 可能通过胞吞等作用进入细胞内部。在近红外激光作用下释放热量, 在较低浓度时, 热量耗散较快, 细胞内温度较低, 此时材料仅能对少量蛋白产生影响, 当细胞内 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 浓度较高时, 热量可以在一定程度上聚集, 对细胞内各种生物大分子造成不可以损失, 诱发细胞凋亡等过程, 造成细胞存活率较低。

通过共聚焦扫描显微镜观察 (图 6) 可以发现, 将 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 与 HeLa 宫颈癌细胞共孵育 6 h 后, 利用 $1.5 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的 808 nm 激光照射 10 min 后, 细胞大量死亡, 与细胞存活率实验结果相一致, 表明制备的 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 对 HeLa 宫颈癌细胞具有优异的光热杀伤效果。其可作为光热试剂应用于肿瘤光热治疗。

2.4 T_2 -MRI 造影性能研究

磁共振成像 (Magnetic resonance imaging, MRI) 具有较高的空间分辨率, 能获得整个组织或器官的 3D 成像信息, 而且无需使用有害的 X-ray 或放射性药物等, 已经成为分子影像和临床诊断的重要工具。 Fe_3O_4 NPs 由于其优异的超顺磁特性而常被用于 T_2 -MRI 造影。由于 $\text{M@Fe}_3\text{O}_4$ 在不同 pH 条件下释放铁离子速率不同, 因此其在不同的

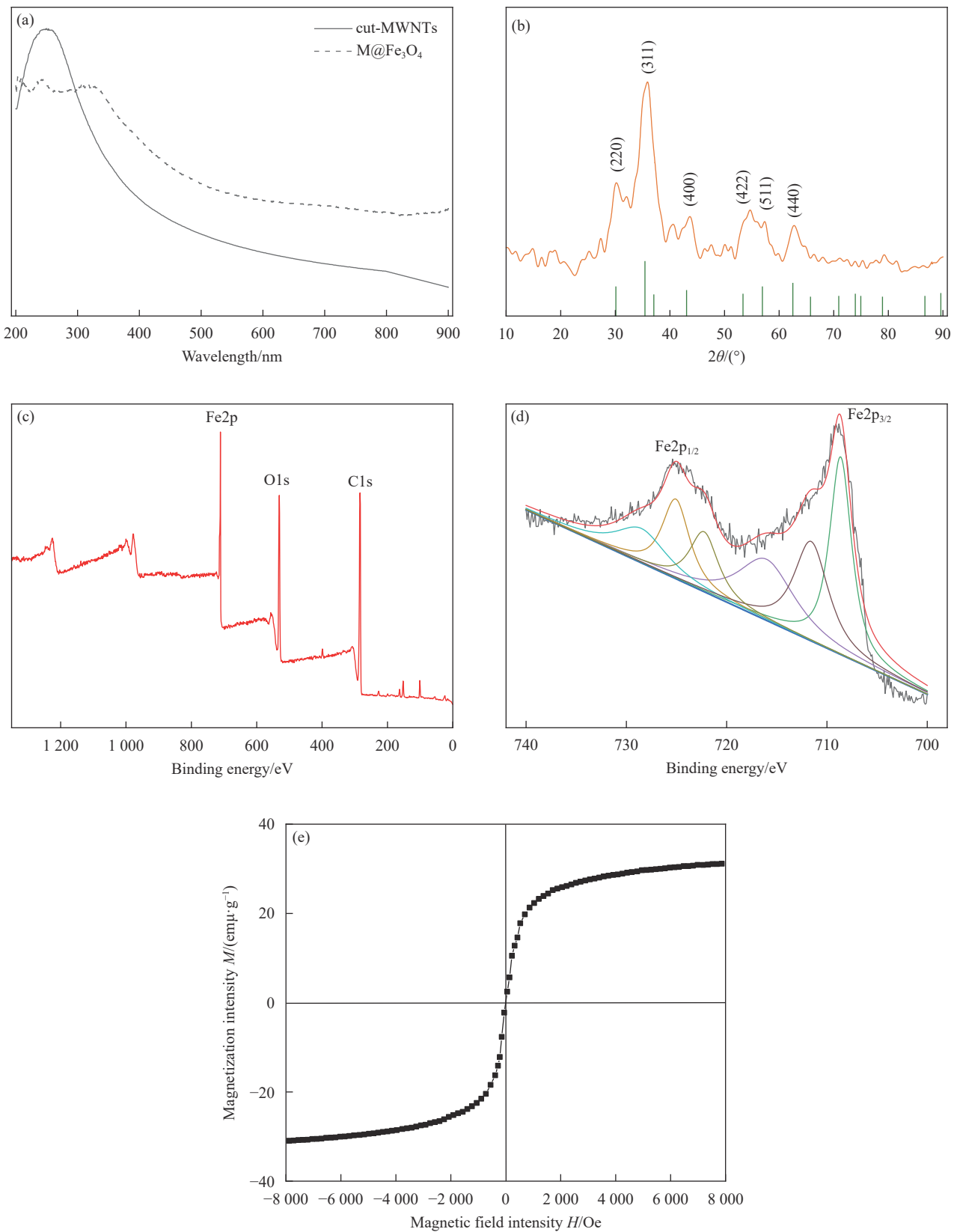


图2 (a) cut-MWNTs 和 M@Fe₃O₄ 的紫外可见吸收光谱; (b) M@Fe₃O₄ 的 XRD 图谱; (c) M@Fe₃O₄ 的 XPS 全谱; (d) M@Fe₃O₄ 的 XPS Fe2p 谱; (e) M@Fe₃O₄ 的磁滞回线

Fig. 2 (a) UV-visible absorption spectrum of cut-MWNTs and M@Fe₃O₄; (b) XRD spectrum of M@Fe₃O₄; (c) XPS survey spectrum of M@Fe₃O₄; (d) XPS Fe2p spectrum of M@Fe₃O₄; (e) Magnetic hysteresis curves measured for M@Fe₃O₄

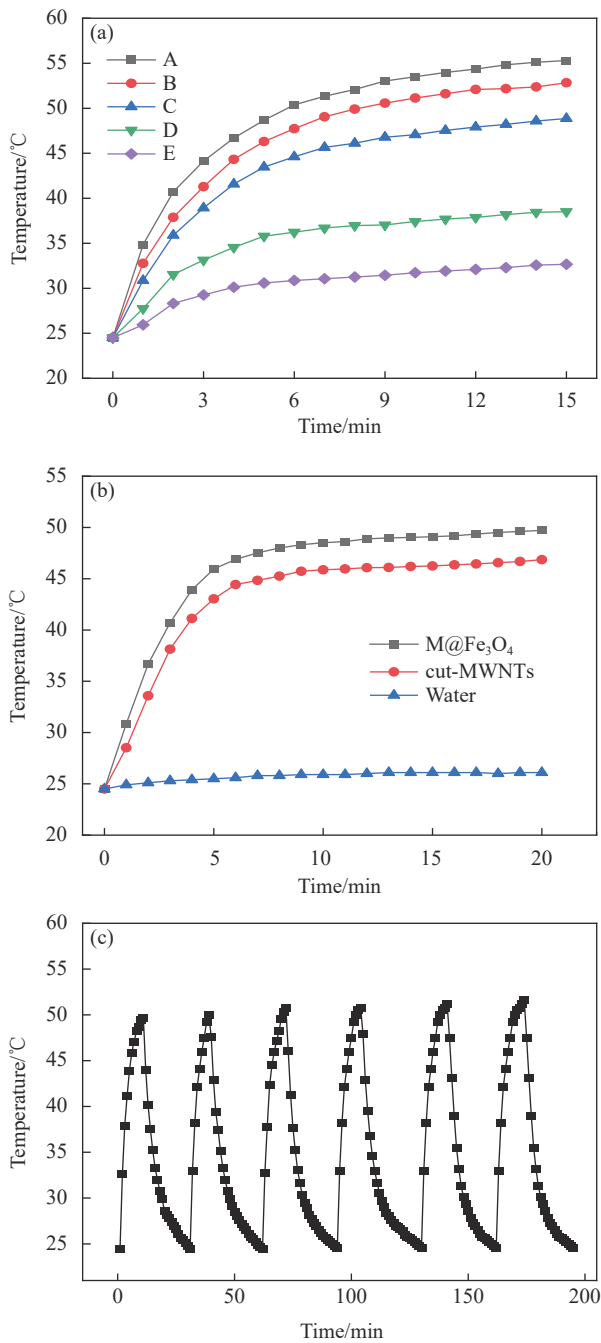


图3 光热性能: (a) M@Fe₃O₄ 在不同浓度和激光辐照功率下的光热升温曲线 (A: 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; B: 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; C: 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; D: 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、1.0 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; E: 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、0.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$); (b) cut-MWNTs 和 M@Fe₃O₄ 在 808 nm 激光下的光热升温曲线, 浓度为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 激光功率为 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; (c) M@Fe₃O₄ 在 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 下的循环升温-降温曲线

Fig. 3 Photothermal properties: (a) Photothermal heating curves of M@Fe₃O₄ at different concentrations and laser irradiation power (A: 150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; B: 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; C: 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; D: 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1.0 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; E: 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$); (b) Photothermal heating curves of cut-MWNTs and M@Fe₃O₄ at 808 nm laser, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, Laser power is 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$; (c) Cyclic heating-cooling curve of M@Fe₃O₄ at 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$

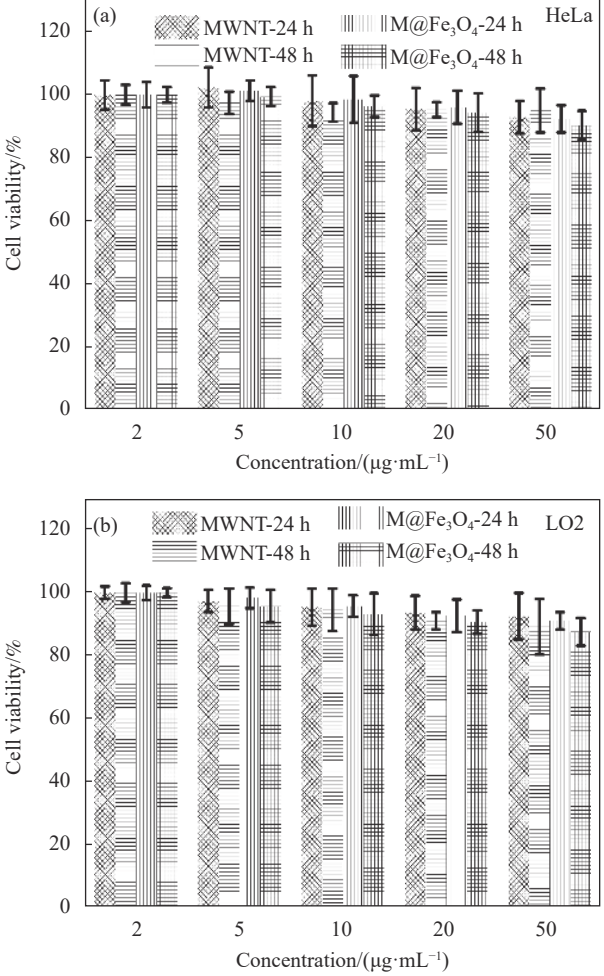


图4 不同共孵育时间和不同浓度条件下, cut-MWNTs 和 M@Fe₃O₄ 对 HeLa 宫颈癌细胞 (a) 和 LO2 正常肝细胞 (b) 的细胞毒性

Fig. 4 HeLa cervical cancer cells (a) and LO2 normal hepatocytes (b) at different co-incubation time and at different concentrations of cytotoxicity of cut-MWNTs and M@Fe₃O₄

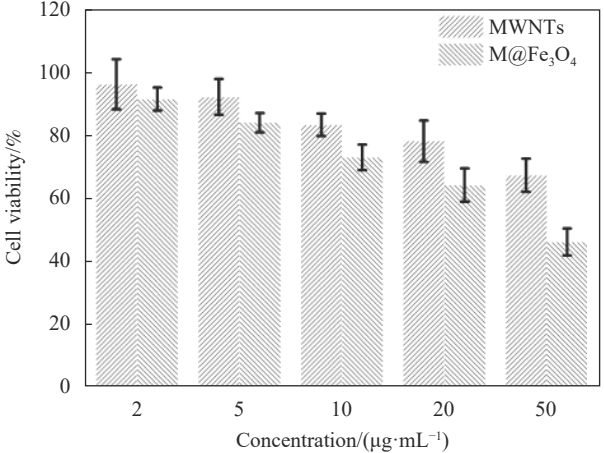


图5 在 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的激光功率 (808 nm) 下, 不同浓度的 cut-MWNTs 和 M@Fe₃O₄ 对 HeLa 宫颈癌细胞的杀伤效果

Fig. 5 Killing effect of HeLa cervical cancer cells by cut-MWNTs and M@Fe₃O₄ at a laser power of 1.5 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ (808 nm)

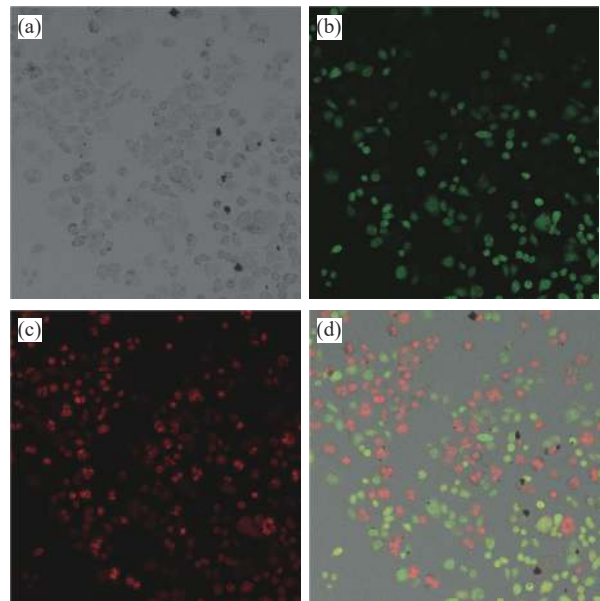


图 6 M@Fe₃O₄ 与 HeLa 细胞共孵育经过活死细胞双染后的共聚焦扫描图像: (a) 明场图像; (b) 活细胞图像; (c) 死细胞图像; (d) 明场和暗场叠加图像

Fig. 6 Confocal scanning images of M@Fe₃O₄ coincubated with HeLa cells after double staining with live-dead cells: (a) Bright field image; (b) Live cell image; (c) Dead cell image; (d) Bright field and dark field superimposed image

测试环境中表现出不同的弛豫率。在模拟肿瘤微环境的弱酸性条件 (pH=5.0) 下(图 7(a)), 其弛豫率 r_2 可达 $215.6\text{ mmol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, 而在正常体液微环境中, 弛豫率仅为 $118.9\text{ mmol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ (图 7(b)), 表明材料在肿瘤微环境条件下具有优异的造影效果, 对于监测 M@Fe₃O₄ 在肿瘤部位的富集具有决定性影响。这可能是由于相对于正常微环境 (pH=7.35~7.45), 肿瘤微环境通常具有较低的 pH 值 (5.5~6.5), 而在肿瘤细胞内不同的细胞器中, pH 可能更低, 如溶酶体和内涵体 pH 约 4~6。M@Fe₃O₄ 可能经过细胞内吞作用进入肿瘤细胞并富集在溶酶体、内涵体中, 从而快速释放铁离子, 从而表现出较高的弛豫率。

3 结论

- (1) 通过溶剂热法在羧化截短的多壁碳纳米管 (MWNTs) 表面原位生长 Fe₃O₄ 纳米粒子 (NPs), 成功制备了磁性碳纳米管复合材料 (M@Fe₃O₄), 结果表明, 其在近红外区域具有优异的光热性能, 可发挥出色的光热治疗能力。
- (2) 在经过 $1.5\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的激光照射后, 肿瘤细胞存活率仅为 46.2%。M@Fe₃O₄ 还具有优异的 T₂-磁共振成像 (MRI) 效果, 在肿瘤微环境的弱酸性

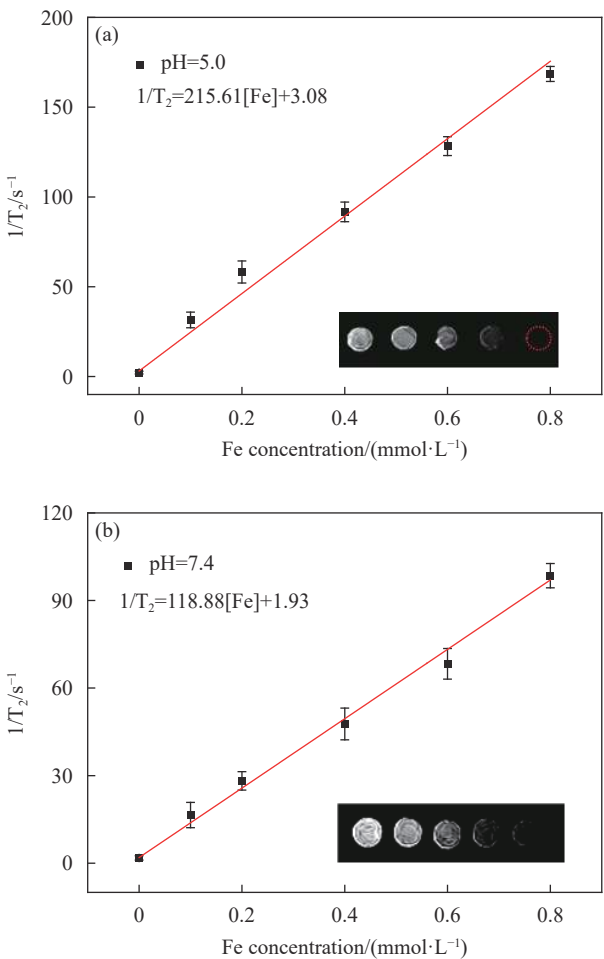


图 7 M@Fe₃O₄ 在不同 pH 条件下的 T₂-磁共振成像 (MRI) 造影效果和弛豫率

Fig. 7 T₂-magnetic resonance imaging (MRI) contrast effects and relaxation rates of M@Fe₃O₄ at different pH conditions

条件下, T₂ 弛豫率 r_2 可达 $215.61\text{ mmol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

(3) M@Fe₃O₄ 有望用于磁靶向的肿瘤诊疗一体化平台。此外, 材料在细胞内的分布及在动物体内循环稳定性、各器官的分布及肿瘤靶向性仍有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2020, 70(1): 7-30.

[2] JANG B, KWON H, KATILA P, et al. Dual delivery of biological therapeutics for multimodal and synergistic cancer therapies[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2016, 98: 113-133.

[3] MENG Z Q, WEI F, WANG R H, et al. NIR-laser-switched in vivo smart nanocapsules for synergic photothermal and chemotherapy of tumors[J]. *Advanced Materials*, 2016,

- 28(2): 245-253.
- [4] JORDAN M A. Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin[J]. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 2002, 2(1): 1-17.
 - [5] MANSOORI B, MOHAMMADI A, DAVUDIAN S, et al. The different mechanisms of cancer drug resistance: A brief review[J]. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2017, 7(3): 339-348.
 - [6] CHEN G Y, QIU H L, PRASAD P N, et al. Upconversion nanoparticles: Design, nanochemistry, and applications in theranostics[J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114(10): 5161-5214.
 - [7] YUAN Y Y, LIU J, LIU B. Conjugated-polyelectrolyte-based polyprodrug: Targeted and image guided photodynamic and chemotherapy with on-demand drug release upon irradiation with a single light source[J]. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 2014, 53(28): 7163-7168.
 - [8] DING Y X, XU Y J, YANG W Z, et al. Investigating the EPR effect of nanomedicines in human renal tumors via ex vivo perfusion strategy[J]. *Nano Today*, 2020, 35: 100970.
 - [9] SHI J J, KANTOFF P W, WOOSTER R, et al. Cancer nanomedicine: Progress, challenges and opportunities[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(1): 20-37.
 - [10] DING J X, CHEN J J, GAO L Q, et al. Engineered nanomedicines with enhanced tumor penetration[J]. *Nano Today*, 2019, 29: 100800.
 - [11] LIU Y J, BHATTARAI P, DAI Z F, et al. Photothermal therapy and photoacoustic imaging via nanotheranostics in fighting cancer[J]. *Chemical Society Reviews*, 2019, 48(7): 2053-2108.
 - [12] ABIOLA T T, RIOUX B, TOLDO J M, et al. Towards developing novel and sustainable molecular light-to-heat converters[J]. *Chemical Science*, 2021, 12(46): 15239-15252.
 - [13] WANG J P, SUN J Y, WANG Y H, et al. Gold nanoframeworks with mesopores for Raman-photoacoustic imaging and photo-chemo tumor therapy in the second near-infrared biowindow[J]. *Advanced Functional Materials*, 2020, 30(9): 1908825.
 - [14] ZHOU Z G, SUN Y N, SHEN J C, et al. Iron/iron oxide core/shell nanoparticles for magnetic targeting MRI and near-infrared photothermal therapy[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(26): 7470-7478.
 - [15] XI D M, XIAO M, CAO J F, et al. NIR light-driving barrier-free group rotation in nanoparticles with an 88.3% photothermal conversion efficiency for photothermal therapy[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(11): 1907855.
 - [16] MODUGNO G, MÉNARD-MOYON C, PRATO M, et al. Carbon nanomaterials combined with metal nanoparticles for theranostic applications[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2015, 172(4): 975-991.
 - [17] GU Z J, ZHU S A, YAN L A, et al. Graphene-based smart platforms for combined cancer therapy[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(9): 1800662.
 - [18] RYU T K, BAEK S W, KANG R H, et al. Selective photothermal tumor therapy using nanodiamond-based nanoclusters with folic acid[J]. *Advanced Functional Materials*, 2016, 26(35): 6428-6436.
 - [19] LYU Z Q, HE S J, WANG Y F, et al. Noble metal nanomaterials for NIR-triggered photothermal therapy in cancer[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2021, 10(6): 2001806.
 - [20] LI S S, GU K, WANG H, et al. Degradable holey palladium nanosheets with highly active 1D nanoholes for synergetic phototherapy of hypoxic tumors[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(12): 5649-5656.
 - [21] ZHANG Y J, SHA R, ZHANG L, et al. Harnessing copper-palladium alloy tetrapod nanoparticle-induced pro-survival autophagy for optimized photothermal therapy of drug-resistant cancer[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 4236.
 - [22] JIANG Y Y, LI J C, ZHEN X, et al. Dual-peak absorbing semiconducting copolymer nanoparticles for first and second near-infrared window photothermal therapy: A comparative study[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(14): 1705980.
 - [23] LI Y W, LIU Z T, MA Y F, et al. Semiconducting nanocomposite with AIEgen-triggered enhanced photoluminescence and photodegradation for dual-modality tumor imaging and therapy[J]. *Advanced Functional Materials*, 2019, 29(38): 1903733.
 - [24] LI J C, YU X R, JIANG Y Y, et al. Second near-infrared photothermal semiconducting polymer nanoadjuvant for enhanced cancer immunotherapy[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(4): 2003458.
 - [25] WANG J, SU X Q, ZHAO P X, et al. Cancer photothermal therapy based on near infrared fluorescent CdSeTe/ZnS quantum dots[J]. *Analytical Methods*, 2021, 13(45): 5509-5515.
 - [26] UZHYTCHAK M, SMOLKOVÁ B, LUNOVA M, et al. Lysosomal nanotoxicity: Impact of nanomedicines on lysosomal function[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2023, 197: 114828.
 - [27] LIU H J, LI C W, QIAN Y, et al. Magnetic-induced graphene quantum dots for imaging-guided photothermal therapy in the second near-infrared window[J]. *Biomaterials*, 2020, 232: 119700.
 - [28] JENA P V, ROXBURY D, GALASSI T V, et al. A carbon nanotube optical reporter maps endolysosomal lipid flux[J].

- ACS Nano, 2017, 11(11): 10689-10703.
- [29] JENA P V, SAFAEE M M, HELLER D A, et al. DNA-carbon nanotube complexation affinity and photoluminescence modulation are independent[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(25): 21397-21405.
- [30] WANG D Q, MENG L J, FEI Z F, et al. Multi-layered tumor-targeting photothermal-doxorubicin releasing nanotubes eradicate tumors in vivo with negligible systemic toxicity[J]. Nanoscale, 2018, 10(18): 8536-8546.
- [31] ZHANG M, WANG W T, WU F, et al. Magnetic and fluorescent carbon nanotubes for dual modal imaging and photothermal and chemo-therapy of cancer cells in living mice[J]. Carbon, 2017, 123: 70-83.
- [32] MENG L J, XIA W J, LIU L, et al. Golden single-walled carbon nanotubes prepared using double layer polysaccharides bridge for photothermal therapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(7): 4989-4996.
- [33] WANG D Q, HOU C, MENG L J, et al. Stepwise growth of gold coated cancer targeting carbon nanotubes for the precise delivery of doxorubicin combined with photothermal therapy[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2017, 5(7): 1380-1387.
- [34] WANG D Q, REN Y B, SHAO Y P, et al. Facile preparation of doxorubicin-loaded and folic acid-conjugated carbon nanotubes@poly(N-vinyl pyrrole) for targeted synergistic chemo-photothermal cancer treatment[J]. Bioconjugate Chemistry, 2017, 28(11): 2815-2822.
- [35] QIU Y Z, TONG S, ZHANG L L, et al. Magnetic forces enable controlled drug delivery by disrupting endothelial cell-cell junctions[J]. Nature Communications, 2017, 8: 15594.
- [36] SAADAT M, MANSHADI M K D, MOHAMMADI M, et al. Magnetic particle targeting for diagnosis and therapy of lung cancers[J]. Journal of Controlled Release, 2020, 10(328): 776-791.
- [37] ZHOU Z J, SHEN Z Y, CHEN X Y, et al. Tale of two magnets: An advanced magnetic targeting system[J]. ACS Nano, 2020, 14(1): 7-11.
- [38] BHATTACHARYA S, KIRAN RAJ M, PRIYADARSHANI J, et al. Targeting magnetic nanoparticles in physiologically mimicking tissue microenvironment[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(28): 31689-31701.
- [39] HAIMOV-TALMOUD E, HAREL Y, SCHORI H, et al. Magnetic targeting of mTHPC to improve the selectivity and efficiency of photodynamic therapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2019, 11(49): 45368-45380.
- [40] PALANISAMY S, WANG Y M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticulate system: Synthesis, targeting, drug delivery and therapy in cancer[J]. Dalton Transactions, 2019, 48(26): 9490-9515.
- [41] JING X N, ZHI Z, ZHANG N, et al. Multistage tumor microenvironment-responsive theranostic nanopeanuts: Toward multimode imaging guided chemo-photodynamic therapy[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 385: 123893.
- [42] JING X N, XU Y Z, LIU D M, et al. Intelligent nanoflowers: A full tumor microenvironment-responsive multimodal cancer theranostic nanoplatfrom[J]. Nanoscale, 2019, 11(33): 15508-15518.