

# 荧光聚多巴胺纳米球的合成及肿瘤光热治疗应用研究

李文玉, 黄钰婷, 吴明燕, 陈婷婷\*, 汪洋\*

南通大学化学化工学院, 江苏 南通

收稿日期: 2023年9月7日; 录用日期: 2023年11月3日; 发布日期: 2023年11月15日

## 摘要

在本文中, 报道了一种利用乙二胺诱导降解聚多巴胺(PDA)的方法来制备具有荧光的聚多巴胺纳米颗粒(FPNPs)并将其用于靶向生物成像。通过乙二胺还原处理PDA得到荧光的粒子能够启发我们寻求各种生物学的方法来制备具有优异光学和生物相容性的FPNPs。此外, 同时利用PDA自身的良好光热转换性质, 对FPNPs进行光热效率测试实验, 实现在肿瘤微环境响应下诊断与治疗的结合。实验表明, FPNPs具有良好的光热转换效率, 在808 nm近红外光照射下, 可以实现光热治疗, 显示出其在肿瘤光热治疗领域应用的巨大潜力。

## 关键词

荧光聚多巴胺纳米颗粒, 细胞成像, 光热治疗, 癌症治疗

# Synthesis of Fluorescent Polydopamine Nanospheres and Application for Photothermal Therapy of Tumor

Wenyu Li, Yuting Huang, Mingyan Wu, Tingting Chen\*, Yang Wang\*

School of Chemistry and Chemical Engineering, Nantong University, Nantong Jiangsu

Received: Sep. 7<sup>th</sup>, 2023; accepted: Nov. 3<sup>rd</sup>, 2023; published: Nov. 15<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

In this work, fluorescent polydopamine nanoparticles (FPNPs) are reported by using the ethylene diamine induced degradation of polydopamine (PDA) to prepare fluorescent polydopamine nanoparticles (FPNPs) and apply them to targeted biological imaging. The fluorescent particles obtained by the reduction treatment of PDA with ethylenediamine can inspire us to seek various biological methods to prepare FPNPs with excellent optical and biocompatibility. In addition, the good photothermal conversion property of PDA itself is used to conduct photothermal efficiency test experiments on FPNPs, realizing the combination of diagnosis and treatment in response to the tumor microenvironment. The experimental results show that FPNPs have a good photothermal conversion efficiency, and can achieve photothermal therapy under 808 nm near-infrared light irradiation, showing great potential in the field of tumor photothermal therapy.

\*通讯作者。

文章引用: 李文玉, 黄钰婷, 吴明燕, 陈婷婷, 汪洋. 荧光聚多巴胺纳米球的合成及肿瘤光热治疗应用研究[J]. 物理化学进展, 2023, 12(4): 295-301. DOI: 10.12677/japc.2023.124030

**nediamine (EDA)-induced degradation of as-prepared polydopamine (PDA) approach and applied for targeted bioimaging. The reductive treatment of PDA in the presence of EDA yields fluorescent nanoparticles, inspiring us to seek various biological approaches to preparing FPNPs with excellent optical and biocompatible properties. Moreover, due to the good photothermal conversion efficiency of PDA, the photothermal efficiency test of FPNPs was carried out to realize the combination of diagnosis and treatment under the response of tumor microenvironment. The results showed that FPNPs has a good photothermal conversion efficiency under 808 nm near-infrared light, showing their great potential in the field of photothermal therapy of tumor.**

## Keywords

**Fluorescent Polydopamine Nanoparticles, Cell Imaging, Photothermal Therapy, Cancer Therapy**

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

恶性肿瘤，即癌症，仍是全世界的一个主要死因[1]。据世界卫生组织报告，每年将近 1000 万例的死亡由癌症所引起。目前临床上广泛采用手术疗法、化学治疗、放射治疗及分子靶向治疗等方法治疗癌症。治疗肿瘤的难点不仅在于肿瘤的强侵袭性、强播散性、易转移性，且还在于化疗药物缺乏选择性并且会导致许多毒副作用[2]。光热转换疗法(Photothermal therapy, PTT)是近年来迅速发展起来的一种肿瘤微创治疗技术，其基本原理是在入射光激发下，靶向肿瘤部位的光吸收剂利用其光热转换效应产生大量热量，可以使肿瘤组织局部升高并达到一定温度(通常温度迅速升高到 48℃ 以上)，致使肿瘤细胞的损伤以及热消融，从而达到杀死肿瘤细胞的目的。随着纳米技术的快速发展，纳米药物已为实时监测和治疗癌症细胞创造了平台。研究人员们研发出了各种用于核磁共振、近红外荧光成像、光声成像和其他检测肿瘤的成像技术的纳米技术平台。研究表明，具有良好光热转换特性的材料，即光热转换剂(PTA)，可尝试应用于肿瘤的光热治疗中，但需要具有低毒性和良好生物相容性等特点。在近红外光范围具有良好吸收性能的纳米材料已被用于肿瘤光热治疗，并取得了一定的进展，如金纳米材料[3] [4] [5]、碳纳米材料[6] [7] [8]、近红外辐射吸收的有机小分子[9] [10] [11]等。

聚多巴胺(PDA)作为一种常见的纳米材料，具有优良的物理和化学特性，如金属离子螯合、光热转换、高分散性、良好的生物相容性和降解性；同时具有很好的包覆能力，可负载大量药物；表面含有大量的官能团，使其容易吸附于药物或进行功能化修饰以提高靶向肿瘤细胞的能力，还降低了纳米材料的细胞毒性。目前已被广泛用于生物医学领域，如生物传感、药物载体、生物成像、组织工程和抗菌剂等[12] [13] [14] [15] [16]。基于此，在本研究中，我们基于盐酸多巴胺在碱性条件下氧化自聚合制备纳米材料的方法制备 PDA 纳米颗粒，再利用乙二胺诱导降解 PDA 纳米颗粒，最终得到荧光聚多巴胺纳米粒子(FPNPs)。该纳米粒子具有较高光热转换效率，并对其在肿瘤细胞成像与光热治疗方面的应用进行了较为深入的研究。

## 2. 实验部分

### 2.1. 仪器与试剂

扫描电子显微镜(ZEISS Gemini SEM 300)；共聚焦超高分辨显微镜(TCS SP8 STED 3X)；紫外 - 可见吸收光谱(UV-Vis)；傅立叶转换红外光谱仪(FTIR)；酶标仪(Multiskan FC)；荧光光谱仪(Cary Eclipse)；红

外热成像相机(Fotric 220)。

盐酸多巴胺, 三羟甲基氨基甲烷(Tris), 乙二胺(EDA), 青霉素-链霉素溶液(100X), 胎牛血清, DMEM 高糖, 噻唑蓝(MTT), 二甲基亚砜(DMSO), 磷酸盐缓冲液(PBS 1X), 细胞活性与细胞毒性检测试剂盒, 无水乙醇等均为分析纯购买自上海阿拉丁试剂有限公司; 实验所用均为去离子水。

## 2.2. FPNPs 纳米粒子的合成及光热性质表征

### 2.2.1. 聚多巴胺(PDA)纳米颗粒的合成

将称量好的 40 mg 盐酸多巴胺溶于 15 mL 去离子水中, 随后加入 20 mL 无水乙醇溶液, 利用超声波清洗器振荡混匀。将 30 mg 三羟甲基氨基甲烷(Tris)溶于 10 mL 去离子水中, 振荡混匀。将两种溶液混合在一起, 转移到锥形瓶中, 并放入磁子, 室温下 500 rpm 磁力搅拌 24 h。反应过程中, 透明无色溶液逐渐变为黑色。用滴管移取反应液 20 mL 于半透膜中, 去夹子封住半透膜。烧杯中加入适量去离子水, 再放入封好的半透膜和磁子, 在 500 rpm 下纯化三天。最后对中间产物的纯化产品进行冻干, 得到聚多巴胺纳米粒子。

### 2.2.2. 荧光聚多巴胺纳米颗粒(FPNPs)的合成

将上述未纯化的含有中间产物的溶液中继续加入 2 mL 乙二胺(EDA), 在室温下 500 rpm 搅拌 24 h, 可观察到溶液逐渐由黑色变为棕褐色。用滴管移取反应液 20 mL 于半透膜中, 取夹子封住半透膜。烧杯中加入适量去离子水, 再放入封好的半透膜和磁子, 在 500 rpm 下纯化三天。最后对最终产物的纯化产品进行冻干, 得到 FPNPs。

### 2.2.3. FPNPs 光热转换性能测试

用波长为 808 nm 的激光( $1 \text{ W/cm}^2$ )照射不同浓度的 FPNPs 溶液和 PDA 溶液, 以纯水为对照, 照射时间为 7 min, 每隔 30 s 测试一次溶液的温度, 并用红外热成像仪记录下不同时间点纯水、FPNPs 溶液和 PDA 溶液的温度变化情况。同时, 为了进一步研究具有近红外吸收的 FPNPs 光热效应稳定性, 用激光照射 FPNPs 溶液( $0.3 \text{ mg/mL}$ ) 5 min, 每隔 30 s 测试一次溶液温度, 待溶液温度冷却至室温, 再次打开激光, 重复上述步骤, 激光开/关四次以测定材料的光热循环稳定性。

### 2.2.4. 细胞毒性及活性实验

在 96 孔板中接种培养的 HeLa 细胞, 每孔加液量 100  $\mu\text{L}$ , 边缘孔用无菌 PBS 填充, 细胞在  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养箱内培养 12 h 后, 完全贴壁, 第二天更换新鲜的培养基, 每孔加入 50  $\mu\text{L}$  的新鲜培养液和 50  $\mu\text{L}$  含有浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$  的 FPNPs, 另一个培养基中加入 50  $\mu\text{L}$  的新鲜培养液和 50  $\mu\text{L}$  含有浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$  的 PDA, 在培养箱内继续培养 12 h。对 FPNPs 和 PDA 组给予 808 nm ( $2.0 \text{ W/cm}^2$ ) 的激光照射 10 min, 激光照射结束后, 细胞继续培养 24 h。配置 5  $\text{mg/mL}$  的 MTT 溶液, 吸去培养上清液后, 每孔中加入 90  $\mu\text{L}$  培养基, 再加入 10  $\mu\text{L}$  MTT 溶液, 于培养箱内继续培养 4 h。终止培养, 小心吸去孔内上清液, 每孔中加入 100  $\mu\text{L}$  的 DMSO, 慢慢振荡 10 min, 使其充分溶解。在酶标仪 OD 490 nm 处测量各孔的吸光值, 以它的吸光度记为 100%, 计算 HeLa 细胞经 FPNPs、PDA 培养后的细胞存活率。

### 2.2.5. 细胞死活染色实验

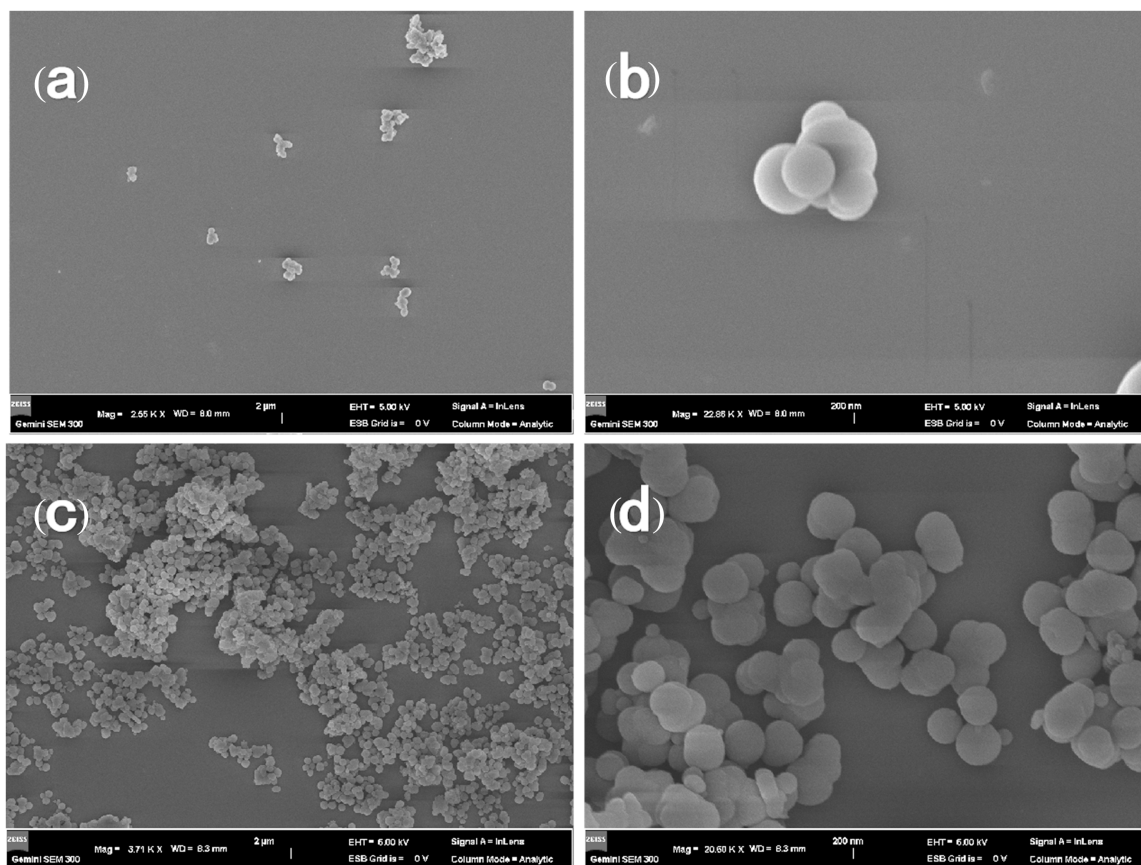
将 HeLa 细胞接种于 6 孔板, 培养 24 h。用含有 FPNPs、PDA (分别为 100  $\mu\text{g/mL}$ ) 的新鲜培养基代替旧培养基, 共培养 4 h。利用 PBS 小心冲洗细胞, 加入新鲜的 DMEM 培养基, 给予细胞激光照射。培养 24 h 后, 用 PBS 轻轻冲洗细胞, 吸去的 DMEM, 用含培养基的 Calcein AM 和 PI 溶液(每孔 1 mL)孵育 30 min。具体的 Calcein AM/PI 染色工作液如下: 将 1  $\mu\text{L}$  的 Calcein AM 溶液(1000X)和 1  $\mu\text{L}$  的 PI (1000X) 加入 10 mL 的 Assay Buffer (1X)中(用 Calcein AM 将活细胞染成绿色, 用 PI 将死亡细胞染成红色)混合均

匀。然后，每孔加入 1 mL Calcein AM/PI 染色工作液，放到培养箱内孵育 30 min 后，用新鲜 PBS 洗涤 3 次，通过荧光显微镜观察成像。

### 3. 结果与讨论

#### 3.1. PDA 和 FPNPs 纳米颗粒的形貌与组成表征

PDA 纳米粒最初是通过前驱体分子多巴胺在 Tris 缓冲溶液中的自聚合得到的。如图 1(a)、图 1(b)所示，PDA 颗粒的形态主要由尺寸为 150 nm~200 nm 的球形结构组成。形成 FPNPs 过程中可以清晰看到得到的纳米颗粒的粒径明显减小，且观察到 FPNPs 尺寸分布均一(如图 1(c)、图 1(d)。说明 PDA 通过加入乙二醇有效分解形成具有良好水溶性的 FPNPs，从而使其适合于各种有机、聚合物、无机或生物物种的功能化。

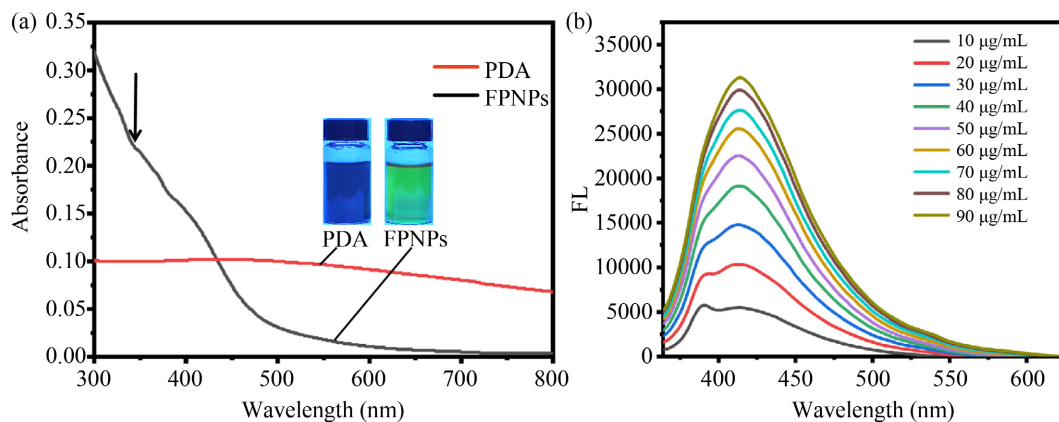


**Figure 1.** (a), (b) SEM images of PDA nanoparticles; (c), (d) SEM images of FPNPs nanoparticles

**图 1.** (a)、(b) PDA 纳米颗粒的扫描电镜照片；(c)、(d) FPNPs 纳米颗粒的扫描电镜照片

#### 3.2. PDA 和 FPNPs 纳米颗粒的光学性质表征

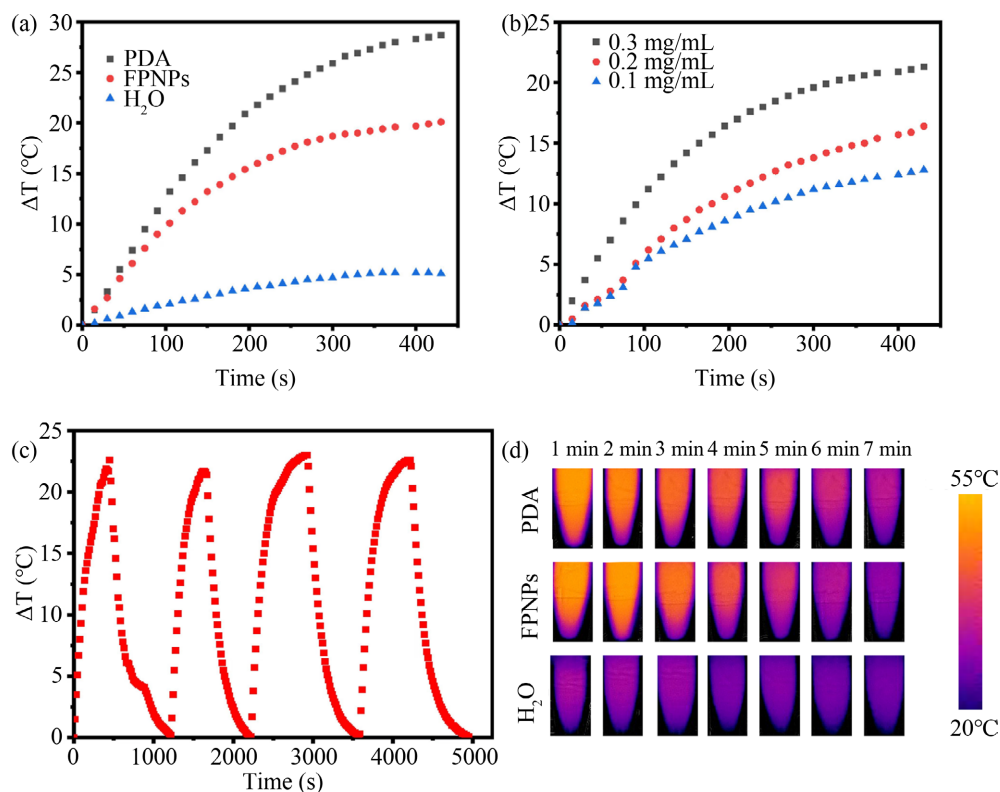
我们详细研究了所制备的纳米颗粒的光学性质。将制备的 PDA 纳米颗粒分散在水溶液中，紫外光下溶液出现蓝色(图 2 中的插图)。在图 2(a)中，紫外-可见-近红外光谱图显示，FPNPs 在紫外区域显示明显的光吸收，尾部延伸到可见范围，其肩部在 350 nm~400 nm 处观察到。在经过表面原位聚合多巴胺壳层过后，纳米颗粒的水分散液的颜色便由原来的蓝色变为了浅绿色。基于 FPNPs 优异的荧光稳定性和生物相容性，我们对不同浓度的 FPNPs 溶液通过荧光光谱仪扫描后得到谱图如图 2(b)所示，结果显示 FPNPs 的荧光强度随浓度升高而增强。



**Figure 2.** (a) UV-vis-NIR absorbance spectra of PDA and FPNPs aqueous solutions; (b) FL emission spectra of FPNPs with different concentrations: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, and 90  $\mu\text{g/mL}$

**图 2.** (a) PDA 和 FPNPs 的水溶液的紫外 - 可见 - 近红外光谱; (b) 不同浓度 FPNPs 溶液的荧光光谱, 从下到上 FPNPs 的浓度为: 10、20、30、40、50、60、70、80 和 90  $\mu\text{g/mL}$

### 3.3. FPNPs 纳米颗粒的光热性能研究



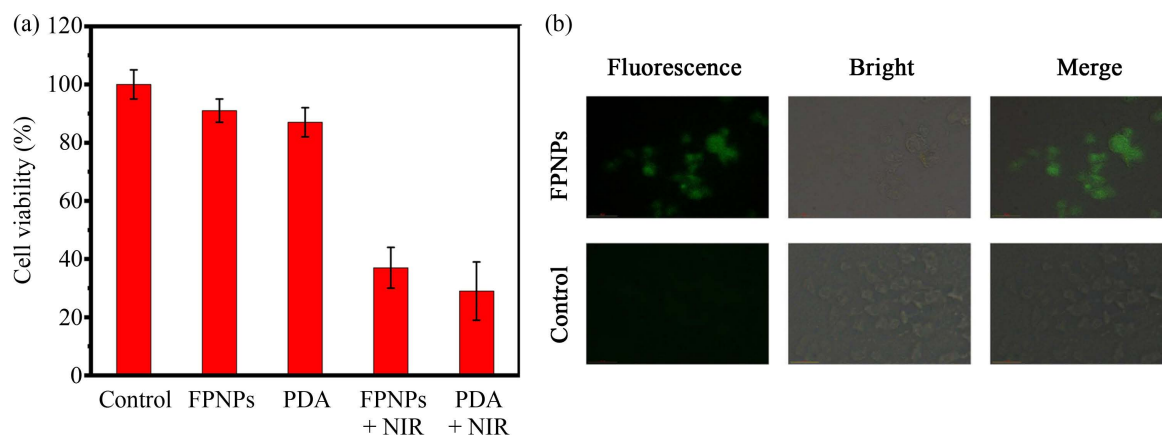
**Figure 3.** (a) The temperature elevation of 0.3 mg/mL PDA solution, FPNPs solution and deionized water under 808 nm laser irradiation with  $1.0 \text{ W/cm}^2$ ; (b) Temperature change curves of FPNPs dispersions with different concentrations under 808 nm laser irradiation at a power density of  $1.0 \text{ W/cm}^2$ ; (c) Temperature curves of FPNPs with concentrations of 0.3 mg/mL for four laser on/off cycles; (d) Photothermal images of 0.3 mg/mL of PDA solution, FPNPs solution and pure water exposed to 808 nm laser ( $1.0 \text{ W/cm}^2$ ) recorded at 7 min

**图 3.** (a) 0.3 mg/mL 的 PDA 溶液和 FPNPs 溶液以及去离子水在 808 nm 激光( $1.0 \text{ W/cm}^2$ )照射下的升温曲线; (b) 不同浓度的 FPNPs 溶液在 808nm 激光 ( $1.0 \text{ W/cm}^2$ ) 照射下的升温变化曲线; (c) 浓度为 0.3 mg/mL 的 FPNPs 溶液在激光开/关四次循环照射下的温度变化曲线; (d) 浓度为 0.3 mg/mL 的 PDA 溶液、FPNPs 溶液和纯水在 808 nm 激光( $1.0 \text{ W/cm}^2$ )照射 7 min 内的红外热成像照片

由于 FPNPs 具有良好的光热转换效率, 接下来研究了其光热性能。如图 3(d)所示, 为了研究 FPNPs 的光热转换效率, 使用了 808 nm 的近红外激光照射不同浓度的 FPNPs 溶液, 照射时间为 7 min, 激光密度为  $1.0 \text{ W/cm}^2$ , 同时用纯水作为对照组。将 FPNPs 溶液、PDA 溶液及去离子水在连续红外激光照射 7 min 后使用红外热成像相机测试溶液温度变化情况。结果显示在 808 nm 的近红外光照射下, 在 FPNPs 溶液中, 温度从  $22.0^\circ\text{C}$  上升到  $43.9^\circ\text{C}$ , 而在 PDA 溶液中, 温度从  $22.0^\circ\text{C}$  上升到  $55^\circ\text{C}$ , 相比之下, 纯水温度的变化可以忽略不计, 只增加了  $5.1^\circ\text{C}$  (图 3(a))。在照射时间为 7 min 的情况下, 在同等激光功率照射条件下, FPNPs 溶液的温度随着浓度的增加而升高(图 3(b))。为了进一步研究具有广泛近红外吸收的 FPNPs 光热效应稳定性, 记录了 FPNPs 溶液( $0.3 \text{ mg/mL}$ ,  $1.0 \text{ mL}$ )的加热和冷却曲线(图 3(c))。经过四次激光照射升温循环实验后, 每次溶液的温度变化基本一致, 表明 FPNPs 具有良好的光热转换稳定性。以上实验结果表明, FPNPs 纳米粒子具有良好的光热转换效率, 可作为一种潜在的肿瘤近红外光热治疗剂。

### 3.4. FPNPs 纳米颗粒的肿瘤细胞光热治疗研究

MTT 检测结果如图 4(a)所示, 可以观察到在 HeLa 细胞在 FPNPs 中孵育 24 h 后存活率仍保持在 95%, 而在 PDA 中孵育 24 h 后存活 90%。经 808 nm 激光照射后 FPNPs 组、PDA 组的细胞存活率保持在 40% 以下, 表明 FPNPs、PDA 在经激光照射后对肿瘤细胞具有光热杀灭性能。为了研究 FPNPs 的荧光成像, 将 HeLa 细胞分别与 FPNPs、PDA 预孵育 4 h, 然后进行荧光成像。FPNPs 组和 PDA 组的荧光图像如图 4(b)所示, 显然, 经 PDA 处理的细胞没有检测到任何荧光, 而经 FPNPs 处理的细胞获得明显的绿色荧光。表明 FPNPs 纳米颗粒被肿瘤细胞摄取后表现出低细胞毒性, 且可用于细胞的荧光成像。



**Figure 4.** (a) The activity of HeLa cells after different treatments; (b) Fluorescence imaging of HeLa cells treated by FPNPs and PDA

**图 4.** (a) 经不同处理后 HeLa 细胞的活性; (b) HeLa 细胞经 FPNPs、PDA 处理后的荧光成像

## 4. 结论

在本文中, 通过多巴胺在碱性条件下氧化自聚合生成聚多巴胺, 并以乙二胺对聚多巴胺进行诱导降解, 制备出了具有荧光特性的 FPNPs 纳米粒子。以此方法制备的 FPNPs 纳米粒子结构更稳定, 其高水溶性使得在实际生物医学应用具有广阔的应用前景, 且 FPNPs 纳米粒子具有很高的光热转换效率, 可用于肿瘤细胞的光热治疗以及实时的荧光监测等。

## 基金项目

本项目由国家自然科学基金(批准号: 22007052), 以及国家级大学生创新创业项目(202310304025Z)支持。

## 参考文献

- [1] Umakoshi, M., Takahashi, S., Itoh, G., *et al.* (2019) Macrophage-Mediated Transfer of Cancer-Derived Components to Stromal Cells Contributes to Establishment of a Pro-Tumor Microenvironment. *Oncogene*, **12**, 2162-2176. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0564-x>
- [2] Nan, Y., Xiao, W.Y., Song, X.J., Wang, W.J. and Dong, X.C. (2020) Recent Advances in Tumor Microenvironment Hydrogen Peroxide-Responsive Materials for Cancer Photodynamic Therapy. *Nano-Micro Letters*, **12**, Article No. 15. <https://doi.org/10.1007/s40820-019-0347-0>
- [3] Chen, J., Ma, Y., Du, W., *et al.* (2020) Furin-Instructed Intracellular Gold Nanoparticle Aggregation for Tumor Photothermal Therapy. *Advanced Functional Materials*, **30**, Article ID: 2001566. <https://doi.org/10.1002/adfm.202001566>
- [4] Chang, H.H. and Murphy, C.J. (2018) Mini Gold Nanorods with Tunable Plasmonic Peaks Beyond 1000 nm. *Chemistry of Materials*, **30**, 1427-1435. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.7b05310>
- [5] 饶艳英, 刘汉燕, 黄微, 等. 金纳米壳材料的可控制备及其 SERS 应用[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(4): 564-571.
- [6] Peng, Y., Guo, B.S., Wang, W., *et al.* (2023) Efficient Preparation of Nitrogen-Doped Lignin-Based Carbon Nanotubes and the Selectivity of Nitrogen Speciation for Photothermal Therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, **238**, Article ID: 124127. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124127>
- [7] Zhao, H., Ding, R., Zhao, X., *et al.* (2017) Graphene-Based Nanomaterials for Drug and/or Gene Delivery, Bioimaging, and Tissue Engineering. *Drug Discovery Today*, **22**, 1302-1317. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.04.002>
- [8] Lin, J., Huang, Y. and Huang, P. (2018) Graphene-Based Nanomaterials in Bioimaging. *Biomedical Applications of Functionalized Nanomaterials*, 247-287. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50878-0.00009-4>
- [9] 郭洁, 郭梦雨, 吴延州, 等. 卟啉-石墨炔衍生物的光热/光动力联合治疗[J]. 中国科学(化学), 2022, 52(5): 309-320.
- [10] Gao, Y., Zhang, L., Liu, Y., *et al.* (2022) Ce6/Mn<sup>2+</sup>-Chelated Polydopamine@ Black-TiO<sub>2</sub>Nanoprobes for Enhanced Synergistic Phototherapy and Magnetic Resonance Imaging in 4T1 Breast Cancer. *Nanoscale*, **12**, 1801-1810. <https://doi.org/10.1039/C9NR09236F>
- [11] Berezin, D.B., Kruchin, S.O., Kukushkina, N.V., *et al.* (2023) Water-Soluble Dicationic Deuteroporphyrin Derivative for Antimicrobial PDT: Singlet Oxygen Generation, Passive Carrier Interaction and Nosocomial Bacterial Strains Photoinactivation. *Photochem*, **3**, 171-186. <https://doi.org/10.3390/photochem3010011>
- [12] 王瑞. 癌症相关 MicroRNA 的荧光生物传感及活细胞成像方法研究[D]: [博士学位论文]. 济南: 山东大学, 2019.
- [13] 蔺兰兰. 基于介孔聚多巴胺的微纳米药物载体的制备及其性能研究[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 兰州交通大学, 2022.
- [14] Chen, J., Wang, Y., Wang, L., Liu, M., *et al.* (2023) Multi-Applications of Carbon Dots and Polydopamine-Coated Carbon Dots for Fe<sup>3+</sup> Detection, Bioimaging, Dopamine Assay and Photothermal Therapy. *Nanoscale Research Letters*, **18**, Article No. 30. <https://doi.org/10.1186/s11671-023-03809-5>
- [15] 徐炎安, 阳淇名, 李鸿, 等. 聚多巴胺仿生法制备羟基磷灰石涂层及对骨髓间质干细胞生物学特性的影响[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(1): 47-54.
- [16] Merino-Gómez, M., Gil, J., Perez, R.A., *et al.* (2023) Polydopamine Incorporation Enhances Cell Differentiation and Antibacterial Properties of 3D-Printed Guanosine-Borate Hydrogels for Functional Tissue Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, 4224. <https://doi.org/10.3390/ijms24044224>