

pH 响应型二硫化钼/葛根素纳米载药体系的制备与性能

魏梅¹, 赵瑞瑞², 黄绍德¹, 李果³, 覃清霞¹, 韦思琪¹, 赵美荣^{1*}
(1. 广西农业职业技术大学食品药品工程学院, 广西南宁 530009;
2. 青岛大学材料科学与工程学院, 山东青岛 266071;
3. 广西华仁博舜生物工程有限公司, 广西南宁 530022)

摘要:基于纳米二硫化钼(MoS₂)表面缺陷位点对巯基的亲性和,构建了一种具有靶向性、抗耐药性及生物相容性良好的普朗尼克 F68(PF68)与精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽(RGD)功能化修饰的二硫化钼/葛根素纳米载药体系 PF68-PEI-MoS₂-RGD(MPPR-PUE)。采用傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、透射电子显微镜(TEM)和 X 射线光电子能谱仪(XPS)对合成材料进行表征;以葛根素为模型药物,通过紫外-可见分光光度计探究该载药体系的载药与释药性能,并通过细胞计数试剂盒-8(CCK8)和划痕实验考察纳米载药体系对肝癌细胞增殖和迁移的影响。结果表明,成功制备了 MPPR-PUE 纳米粒子,其载药量达 46.91%±3.27%,封装率达到 82.52%±0.82%。在 pH 为 5.50 的磷酸缓冲液(PBS)溶液中,24 h 药物的释放率可以达到 61.60%±5.01%,具有 pH 响应性释药特性。MPPR-PUE 纳米粒子对肝癌细胞增殖和迁移的抑制效果最好。

关键词:二硫化钼;葛根素;纳米载药体系;抗肿瘤

中图分类号:TQ461;TQ469

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2026)06-0122-08

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2026.06.021

Preparation and properties of pH responsive molybdenum disulfide/puerarin nanocarrier system

WEI Mei¹, ZHAO Rui-rui², HUANG Shao-de¹, LI Guo³, QIN Qing-xia¹,
WEI Si-qi¹, ZHAO Mei-rong^{1*}

(1. College of Food and Drug Engineering, Guangxi Vocational University of Agriculture, Nanning 530009, China;
2. College of Materials Science and Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China;
3. Guangxi Huaren Boshun Biological Engineering Co., Ltd., Nanning 530022, China)

Abstract:Based on the affinity of surface defect sites on nano molybdenum disulfide (MoS₂) for thiol groups, a Pluronic F68 (PF68) and Arg-Gly-Asp tripeptide (RGD) functionalized MoS₂/puerarin nano-drug delivery system, termed PF68-PEI-MoS₂-RGD (MPPR-PUE), was designed and constructed. The synthesized materials were characterized using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), Transmission Electron Microscopy (TEM), and X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). Using puerarin as the model drug, the drug loading and release properties of this delivery system were investigated via ultraviolet-visible spectrophotometry. The effects of the nano-drug delivery system on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma (HCC) cells were evaluated using cell counting kit-8 (CCK-8) and wound healing (scratch) assays. The results demonstrate the successful preparation of MPPR-PUE nanoparticles, achieving a drug loading capacity of 46.91%±3.27% and an encapsulation efficiency of 82.52%±0.82%. In phosphate buffered saline (PBS) at pH 5.50, the cumulative drug release reached 61.60%±5.01% after 24 h, indicating pH-responsive drug release characteristics. The MPPR nanoparticles exhibited the most potent inhibitory effect on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells.

Key words: molybdenum disulfide; puerarin; nanodrug delivery system; anti-tumor

中草药活性成分葛根素(PUE),具有保护心脑血管、减轻肝、肾炎症损伤的作用,有抗肿瘤、抗炎等药理活性^[1-3],可通过调控磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(AKT)和哺乳动物雷帕霉素靶

蛋白(mTOR)等信号通路诱导肿瘤细胞凋亡并抑制肝癌细胞增殖、迁移及转移^[3-6],但其水溶性差、对肿瘤组织选择性差等限制了其临床应用。

随着纳米技术的发展,二硫化钼(MoS₂)纳米材

收稿日期:2025-08-01;修回日期:2026-04-04

基金项目:广西农业农村厅科技自筹项目(Z2023117);广西农业职业技术大学科学研究与技术开发计划项目(YKJ2209);山东省自然科学基金青年项目(ZR2024QH091)

作者简介:魏梅(1992-),女,硕士,讲师,研究方向为药理活性、药物剂型,1227816425@qq.com;赵美荣(1984-),女,硕士,高级实验师,研究方向为药物化学,通讯联系人,285600627@qq.com。

料因具有由范德华力结合的S-Mo-S三明治夹层状层状结构及大比表面积、高效吸附能力、表面缺陷位点对巯基亲和性等理化特性^[7-9],且在体内可经氧化、降解等生物化学转化并兼具光热与催化性能,在肿瘤治疗中应用前景广阔,可通过含巯基化合物功能化修饰构建多功能纳米给药平台^[10-11]。普朗尼克F68(PF68)作为聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物,具低毒、弱免疫原性,可抑制肿瘤细胞表面P-糖蛋白外排功能以逆转多药耐药性(MDR)^[12-14],Lee等^[15]制备了Pluronic包被的羟丙基- β -环糊精纳米颗粒,增强对MDR肿瘤细胞杀伤效果。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽(RGD)是整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的特异性配体,整合素 $\alpha_v\beta_3$ 在肿瘤新生血管内皮细胞及多种肿瘤细胞表面有高表达,而在成熟血管和正常组织中几乎不表达^[16-17],在肝癌细胞中,发现 $\alpha_v\beta_3$ 的表达显著增高^[18]。Wei等^[19]合成还原响应性与RGD靶向性的纳米氧化石墨烯药物载体(RGPD),通过细胞摄取实验得到RGD肽能特异性识别HepG2细胞。

本研究构建了RGD靶向的多功能MoS₂纳米载药体系(Pluronic-PEI-MoS₂-RGD, MPPR),通过PF68与RGD的协同修饰,赋予载体抗耐药性、肿瘤靶向性及良好生物相容性。以葛根素为模型药物,研究MPPR的载药能力、pH响应释药特性以及对肝癌细胞增殖和迁移的抑制作用,为肝癌等恶性肿瘤的靶向联合治疗提供了新策略。

1 实验材料与方法

1.1 材料与仪器

试剂:四水合七钼酸铵[(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O]、硫

脲[CS(NH₂)₂]购于成都科龙化工股份有限公司;普朗尼克F68(PF68)、聚乙烯亚胺(PEI)、1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)、*N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、乙腈均购于上海阿拉丁生化科技有限公司;*N,N*-羰基二咪唑(CDI)、硫辛酸(LA)、葛根素(PUE)、精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)购于上海麦克林生化科技股份有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购于成都金山化学试剂有限公司;三乙胺(TEA)购于天津市富宇精细化工有限公司;以上试剂均为分析纯,实验用水为超纯水。

细胞:人肝星形细胞(LX-2细胞)、HCC-LM3人高转移肝癌细胞(LM3细胞)购买于上海碧云天生物技术股份有限公司。

仪器:FB203C型电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司);08-2G型磁力搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表有限公司);HT-3型恒温磁力加热搅拌器(国华常州仪器制造有限公司);DGX-9243B-2型恒温电热烘箱(上海福玛实验设备有限公司);KQ-300VSM型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);PHS-25型酸度计(上海仪电科学仪器股份有限公司);TGL-21M型台式大容量高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);1550型全波长酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司);FTIR-850傅里叶变换红外光谱仪(天津港东科技股份有限公司);JSM-7610F Plus扫描电镜、JEM-2100型透射电子显微镜(日本电子株式会社);ESCALAB 250Xi型X射线光电子能谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司)。

1.2 实验方法

反应的合成步骤如图1所示。

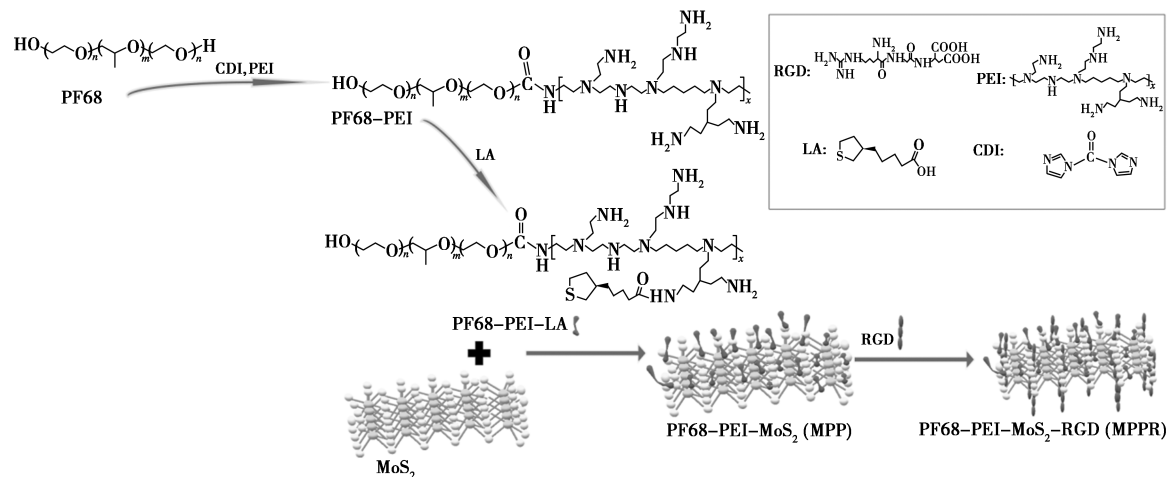


图1 合成反应图

1.2.1 纳米二硫化钼的制备

以四水合七钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 为钼源,以硫脲 $[\text{CS}(\text{NH}_2)_2]$ 为硫源,使用水热反应法制备二硫化钼纳米片^[20]。

将 1.279 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 与 2.352 g $\text{CS}(\text{NH}_2)_2$ 溶于 35 mL 去离子水,超声 30 min 至完全溶解。取 30 mL 溶液转移至 50 mL 不锈钢水热高压反应釜,200℃ 反应 10 h 后自然冷却。产物经去离子水冲洗、超声分散,12 500 r/min 离心 30 min 弃上清;将沉淀重复超声分散、离心洗涤 3 次后,以 4 000 r/min 低速离心 30 min 去除大颗粒,所得 MoS_2 纳米片悬液密封保存于 4℃ 冰箱备用。

1.2.2 功能化二硫化钼药物载体的制备

基于二硫化钼(MoS_2)对巯基的高活性,对其进行功能化修饰:首先以 *N,N*-羰基二咪唑(CDI)活化普朗尼克 F68(PF68)羟基,通过咪唑中间体,使聚乙烯亚胺(PEI)上的氨基和 PF68 以酰胺键连接,制得 PF68-PEI^[21];随后利用硫辛酸(LA)羧基与 PF68-PEI 氨基偶联,获得 PF68-PEI-LA;进而将其与 MoS_2 共价结合,最后与硫辛酸活化的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD-LA)反应,完成 MoS_2 功能化修饰。

硫辛酸(LA)活化:将 115 mg EDC、70 mg NHS 和 5 mg LA 溶于 2 mL 乙腈,超声活化 15 min 备用。

PF68-PEI-LA 制备:分别将 12.7 g PF68 和 0.25 g CDI 溶解于 20 mL DMSO,混合后加入 0.2 mL 三乙胺,避光搅拌 4 h 制得 PF68-CDI;将其滴加至 0.9 g PEI(1.5 mmol)溶液中,2 h 滴毕后继续反应 12 h,经透析袋(3 500 Da)透析 48 h 得 PF68-PEI;加入活化 LA 搅拌反应 24 h,再次透析 48 h 获得 PF68-PEI-LA。

MoS_2 功能化:将 25 mL MoS_2 纳米片悬液(0.2 mg/mL)与 PF68-PEI-LA 混合,超声 30 min 后搅拌 24 h,12 500 r/min 离心弃上清,去离子水洗涤 3 次,制得 PF68-PEI- MoS_2 (MPP)。

MPPR 载药体系构建:将 RGD 溶于 30 mL 去离子水,超声溶解后调 pH 至 7.4,加入活化 LA 溶液反应 24 h,再与 MPP 混合继续反应 24 h;经 12 500 r/min 离心、洗涤 3 次后,4 000 r/min 离心弃下清液,即得 PF68-PEI- MoS_2 -RGD(MPPR)。

1.2.3 样品的表征

采用扫描电子显微镜(SEM)和透射电子显微镜(TEM)观察 MoS_2 、MPP、MPPR 的微观结构及形貌,SEM 加速电压为 10 kV,TEM 加速电压为

200 kV。利用傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)表征样品官能团结构,以 KBr 为压片基质,将 1 mg 冷冻干燥后的 MoS_2 、MPP、MPPR 分别与 100 mg KBr 粉末在玛瑙研钵中充分研磨,压片后置于样品室,扫描范围设为 400~4 000 cm^{-1} ,扫描次数 20 次,分辨率 4 cm^{-1} 。通过 X 射线光电子能谱仪(XPS)对二硫化钼纳米载体进行元素组成分析,采用 Al $K\alpha$ 射线源,以 C 1s(284.8 eV)为结合能校正标准,进行全谱扫描及高分辨窄谱扫描,分析元素种类及相对含量。

1.2.4 载药与释药性能测试

(1) 葛根素标准曲线:称取 10 mg 葛根素(PUE)溶于 10 mL DMSO,超声溶解后配制成 1 mg/mL 储备液。取 1 mL 储备液稀释,通过紫外-可见分光光度计全波长扫描确定特征吸收峰。将储备液稀释为 10、20、40、60、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液,测定特征吸收峰下的吸光度,以浓度为横坐标、吸光值为纵坐标绘制标准曲线。

(2) 葛根素负载:利用 PF68-PEI- MoS_2 -RGD(MPPR)表面氨基与葛根素羟基的共价结合实现载药。取 6 份 1 mL MPPR 溶液(2.67 mg/mL),加入 10 mL 纯化水、12 mg EDC 和 12 mg NHS,超声活化 15 min;分别与 1~6 mg 葛根素混合,于 37℃ 下振荡反应 24 h。反应液经 12 500 r/min 离心 50 min,取上清液,采用紫外分光光度法测定游离葛根素含量,计算载药量[式(1)]和包封率[式(2)]。

$$\text{载药量}(\%) = \frac{(M_{\text{投入}} - M_{\text{游离}}) / [M_{\text{MPPR}} + (M_{\text{投入}} - M_{\text{游离}})]}{\times 100\%} \quad (1)$$

$$\text{包封率}(\%) = \frac{(M_{\text{投入}} - M_{\text{游离}}) / M_{\text{投入}}}{\times 100\%} \quad (2)$$

式中, $M_{\text{投入}}$ 为葛根素药物投入的初始质量,mg; $M_{\text{游离}}$ 为上清液中游离葛根素的量,mg; M_{MPPR} 为载体的质量,mg。

(3) 释药测试:肿瘤组织和细胞的代谢获能途径与正常细胞不同,肿瘤细胞内的 pH 值偏弱酸性,有文献报道,肝癌细胞内 pH 大约是 4.0~6.0 之间^[22]。基于肝癌细胞内弱酸性环境,参照 2020 版《中国药典》配制 pH 为 5.50 和 7.40 的 PBS 缓冲液。取 45 mL 缓冲液于 250 mL 烧杯,将 5 mL MPPR-PUE 溶液装入 3 500 Da 透析袋($n=3$)中,37℃ 恒温磁力搅拌。间隔取样 5 mL 透析外液并补充等体积缓冲液,通过紫外分光光度法测定葛根素含量,计算累积释药率 Q [式(3)]。

$$Q = (V \sum_{n=1}^{t-1} C_t + V_0 C_t) / m_{\text{drug}} \quad (3)$$

式中, Q 为 PUE 药物的累积释放量,%; t 为不同时

刻, h ; V_0 为释放介质的总体积, mL; C_t 为不同时刻测得的药物质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; V 为每次取样体积, mL; m_{drug} 为投入药物总质量, μg 。

为了进一步探究载药体系的释药行为, 通过 Origin 软件分别采用 5 种经典数学模型对释药数据进行拟合, 包括 Zero-order、First-order、Higuchi、Korsmeyer-Peppas 和 Weibull 模型^[23], 分别如式(4)~(8)所示。

$$\text{Zero-order } Q = a \times t + b \quad (4)$$

$$\text{First-order } Q = 1 - e^{-kt} \quad (5)$$

$$\text{Higuchi } Q = k_2 \times \sqrt{t} + b \quad (6)$$

$$\text{Korsmeyer-Peppas } Q = k_3 \times t^n \quad (7)$$

$$\text{Weibull } Q = 100 \{1 - e^{-[k(t-t_0)]^d}\} \quad (8)$$

式中, Q 为 t 时累积释放百分率, %; k 、 n 为系数, 释放指数 n 是表征释放机制的特征参数; t 为释放时间, h。

1.2.5 载体安全性及载药颗粒抗癌活性

采用 CCK8 法评价 MPPR 安全性及载药颗粒 MPPR-PUE 抗癌活性。取对数生长期的 LX-2 和 LM3 细胞, 以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 培养 24 h 后分组处理: 空白组(单纯培养液)、对照组(含细胞)、纳米载体实验组(浓度 100、50、25、12.5、0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、载药颗粒 MPPR-PUE 实验组(浓度 100、50、25、12.5、0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、PUE 药物组(浓度 100、50、25、12.5、0 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 每组设 6 个复孔。给药 48 h 后弃去培养液, 加入 CCK8 试剂孵育 4 h, 酶标仪测定 450 nm 处吸光值(OD), 计算细胞相对增殖率(RGR), 如式(9)所示。

$$RGR(\%) = \frac{(\text{实验组 OD 均值} - \text{空白组 OD 均值})}{(\text{对照组 OD 值} - \text{空白组 OD 值})} \times 100\% \quad (9)$$

1.2.6 细胞迁移

取对数生长期 LM3 细胞, 消化计数后按 5×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 加 2 mL 完全培养基, 培养 24 h 至细胞铺满。将 6 孔板分为 4 组: 正常组(只含培养基)、PUE 组、MPPR 组、MPPR-PUE 组。用无菌枪头垂直划线, PBS 清洗后, 各组分别加入含对应药物(PUE、MPPR、MPPR-PUE)的培养基, 0 h 拍照记录。继续置于培养箱培养 24 h 后再次拍照, 使用 Image J 软件计算细胞迁移率, 对比分析不同处理对细胞迁移能力的影响。

2 结果与讨论

2.1 样品的形貌表征

MoS₂、MPP 和 MPPR 的 SEM 和 TEM 图如图 2

和图 3 所示。从图 2(a) MoS₂ 的电镜图看到, 其表面光滑, 呈现较为平整、规则的片状结构; 图 2(b) MPP 的电镜图出现褶皱和卷曲, 边缘不平整, 这是由于 PEI 和 PF68 修饰后, 改变了 MoS₂ 表面的形态, 使 MoS₂ 片层发生弯曲和变形。图 2(c) MPPR 的电镜图同样存在褶皱和卷曲现象, 且褶皱和卷曲程度比较明显, 这是因为 RGD 肽的引入进一步影响了材料的微观结构。图 3(a) 显示 MoS₂ 是具有二维

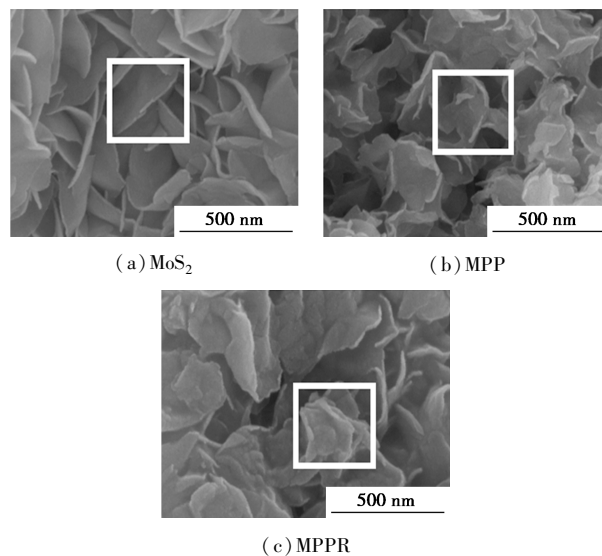


图 2 SEM 图

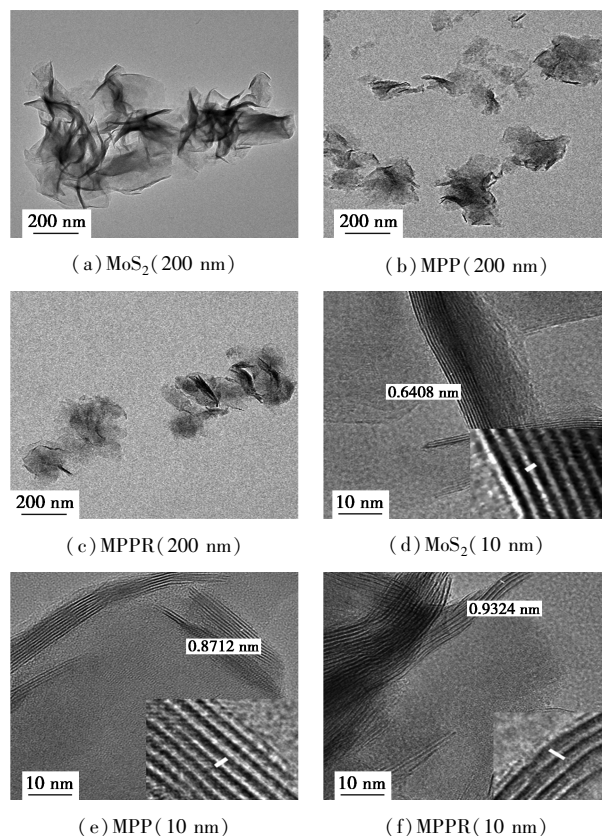


图 3 TEM 图

片层状结构,呈现出片层堆叠状态。图 3(d)表明 MoS₂ 的结晶性良好,层间距为 0.640 8 nm。图 3(b)、(c)可以看到 MoS₂ 表面经过 PEI、PF68 和 RGD 的修饰,表面变得更加均匀,分散性提高,MoS₂ 仍体现出很薄的片层结构。图 3(e)、(f)显示,经过修饰后,层间距有所增大,为后续反应提供了条件。

2.2 样品的结构分析

使用傅里叶变换红外光谱仪对 MoS₂ 和经过修饰的 MoS₂ 纳米载体进行全波谱扫描,得到红外光谱见图 4 所示,曲线 1 为 MoS₂,曲线 2 是聚乙烯亚胺(PEI)和普朗尼克 PF68 修饰后的 MoS₂(MPP),曲线 3 是聚乙烯亚胺(PEI)、普朗尼克 PF68、RGD 肽修饰后的 MoS₂(MPPR)。对于曲线 2,2 944.79 cm⁻¹ 处的吸收峰,归属于聚乙烯亚胺(PEI)和普朗尼克 PF68 上亚甲基的 C—H 键振动;在 1 650.78 cm⁻¹ 处的峰,可能对应 PEI 中 N—H 的弯曲振动;在 1 409.72 cm⁻¹ 处的吸收峰,源于 PF68 中的—CH₂ 和 C—O—C 结构振动。这些特征峰的出现,表明 PEI 和 PF68 已成功引入到 MoS₂ 表面。对于曲线 3,除了曲线 2 中的特征峰外,在 1 706.64 cm⁻¹ 处的吸收峰为 RGD 肽中羧酸基团(—COOH)的 C=O 键,在 1 650.78 cm⁻¹ 处的吸收峰归属可能是 RGD 肽的酰胺 I 带(C=O 伸缩和 N—H 弯曲耦合)和 PEI 中 N—H 弯曲振动,在 1 552.51 cm⁻¹ 处的吸收峰归属为 RGD 肽的酰胺 II 带 N—H 弯曲和 C—N 伸缩峰和 PEI 中 N—H 弯曲振动,各特征结构的出现表明 PEI、PF68 和 RGD 肽成功修饰在 MoS₂ 的表面上。

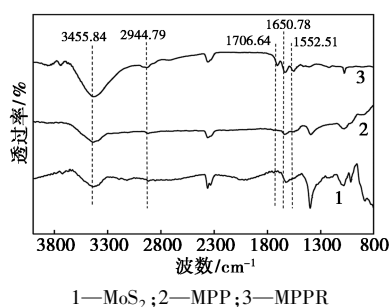


图 4 红外光谱图

利用 X 射线光电能谱(XPS)对二硫化钼以及修饰后的二硫化钼的元素组成进行分析。从图 5 的全谱中可清晰观察到 Mo 元素和 S 元素的特征峰。对 Mo、S 元素进行高分辨扫描,如图 6、图 7 所示。在 Mo 3d 轨道高分辨扫描谱中,在 232.0 eV 和 228.8 eV 附近的 2 个峰,分别对应 Mo 3d_{5/2} 轨道和 Mo 3d_{3/2} 轨道。在 S 2p 轨道高分辨扫描谱中,162.42 eV 和 161.04 eV 附近的 2 个峰,分别对应

S 2p_{3/2} 轨道和 S 2p_{1/2} 轨道。对峰面积积分,确定元素百分比,钼为 17.04%,硫为 29.84%,钼与硫比值为 0.57,接近理论值 0.5,表明水热反应产物为二硫化钼。

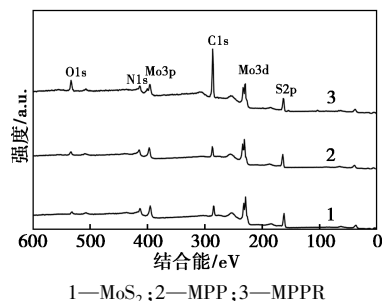
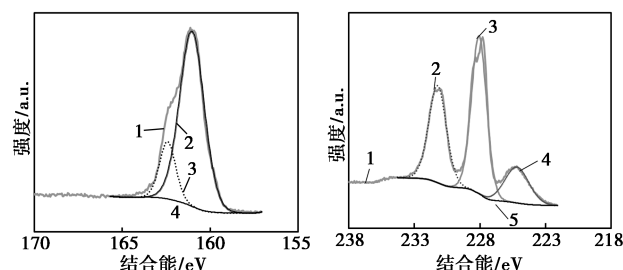


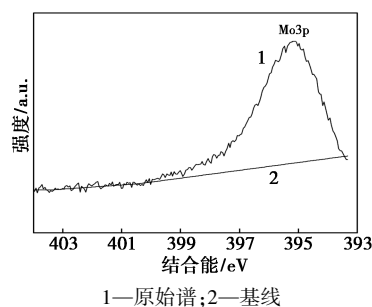
图 5 XPS 全谱图



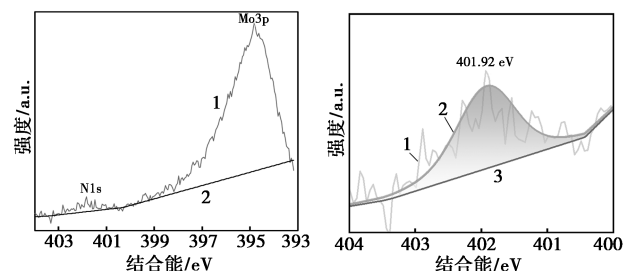
1—原始谱;2—S 2p_{3/2}; 3—S 2p_{1/2};4—基线
1—原始谱;2—Mo 3d_{3/2}; 3—Mo 3d_{5/2};4—S 2s;5—基线
(a) MoS₂ 的 S 2p 高分辨谱 (b) MoS₂ 的 Mo 3d 高分辨谱

图 6 二硫化钼纳米材料的 S 2p 和 Mo 3d 高分辨谱

通过对二硫化钼以及修饰后的二硫化钼的 N 元素进行分峰拟合分析,如图 7 所示,MoS₂ 的 N 1s 谱中无明显峰,经 PEI、PF68 修饰后的二硫化钼的 N 1s 谱出现特征峰,再经过 RGD 修饰后的二硫化



1—原始谱;2—基线
(a) MoS₂ 的 N 1s 高分辨谱



1—原始谱;2—基线
1—原始谱;2—拟合峰;3—基线
(b) MPP 的 N 1s 高分辨谱 (c) MPP 的 N 1s 分峰拟合谱

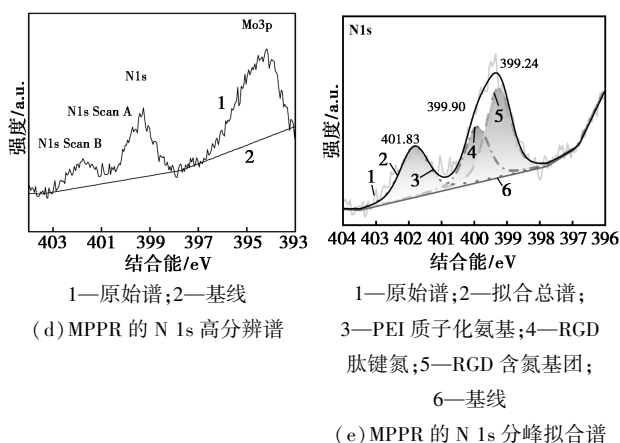


图7 N 1s 高分辨谱

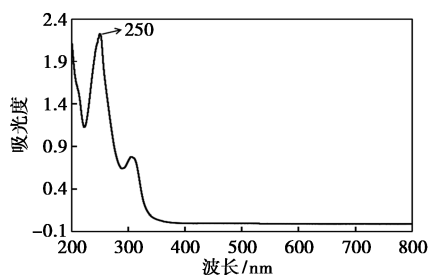
钼的 N 1s 谱存在多个不同化学态的 N, 这证明二硫化钼表面功能化修饰成功。

2.3 载药与释药性能测试

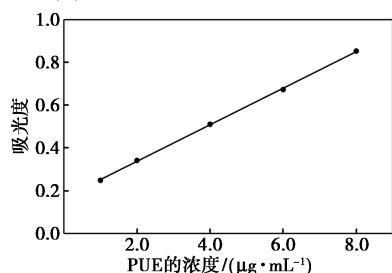
Puerarin (PUE) 的紫外-可见吸收光谱如图 8 (a) 所示, PUE 在波长为 250 nm 处的吸收峰比较特殊而且比较平缓, 选择波长为 250 nm 进行定量分析, 分别测不同浓度 PUE 标准溶液在特征波长处的吸光值, 然后绘制标准曲线。标准曲线见图 8 (b) 所示, PUE 的线性回归方程如式 (10) 所示。

$$A = 0.0085C + 0.1663 \quad (R^2 = 0.9997) \quad (10)$$

其中, A 为 PUE 在 250 nm 处紫外-可见吸光度值, C 为 PUE 的浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), 相关系数 $R^2 = 0.9997$, 表明 PUE 浓度在 0~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 具有较好的线性关系, 该标准曲线可信。



(a) PUE 的紫外-可见吸收光谱图

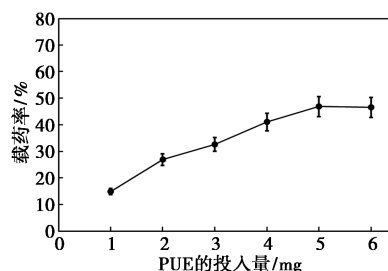


(b) PUE 的标准曲线图

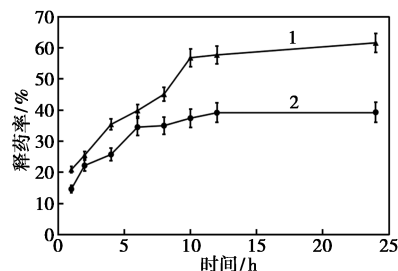
图8 PUE 的紫外-可见吸收光谱图和标准曲线图

对药物载体 MPPR 进行载药和体外释药性能的考察结果如图 9 所示。图 9 (a) 是载药性能考察

结果, 随着药物 PUE 投入量的增加, 载药量逐渐增加, 当投入药物为 5 mg 时, 载药量达到 $46.91\% \pm 3.27\%$, 包封率达到 $82.52\% \pm 0.82\%$ 。利用肝癌细胞内的弱酸性特点, 根据药典配制 pH 为 5.50、7.40 的 PBS 磷酸缓冲溶液进行释药实验, 结果见图 9 (b) 所示。载药体系具有 pH 响应, 在 pH 为 7.40 的 PBS 磷酸缓冲溶液中, 24 h 后药物的释放率是 $39.30\% \pm 3.06\%$, 在 pH 为 5.50 的 PBS 溶液中, 24 h 后药物的释放率可以达到 $61.60\% \pm 5.01\%$, 具有较好的药物释放性能。将载药体系中的药物释放情况进行动力学模型拟合, 可以在一定程度上反映药物的释放机理。因此, 使用 Origin 2022 软件对本实验中的体外释放数据进行 Zero-order、First-order、Higuchi、Korsmeyer-Peppas 和 Weibull 模型拟合, 根据拟合优度 (R^2) 来判定曲线拟合情况, 动力学分析结果见表 1。在 pH 为 7.40 时, First-order 模型拟合



(a) 载药性能考察结果图



1—pH = 5.50; 2—pH = 7.40

(b) 释药性能考察结果图

图9 载药和体外释药性能考察图

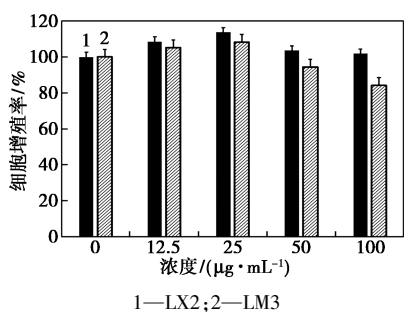
表1 MPPR-PUE 释放动力学的代表性模型

pH	模型	方程式	R^2
7.40	Zero-order	$Q_1 = 0.9473t + 23.0511$	0.5209
	First-order	$Q_1 = 38.3167[1 - e^{(-0.3731t)}]$	0.9361
	Higuchi	$Q_1 = 6.5197(t^{1/2}) + 13.6935$	0.7531
	Korsmeyer-Peppas	$Q_1 = 18.9258t^{0.2671}$	0.8441
	Weibull	$Q_1 = 100[1 - e^{-(0.0036(t-0.8840)^{0.2394}})]$	0.9119
5.50	Zero-order	$Q_2 = 1.7940t + 27.8264$	0.7122
	First-order	$Q_2 = 60.2266[1 - e^{(-0.2271t)}]$	0.8899
	Higuchi	$Q_2 = 11.6556(t^{1/2}) + 11.9379$	0.8810
	Korsmeyer-Peppas	$Q_2 = 22.3421t^{0.3461}$	0.9123
	Weibull	$Q_2 = 100[1 - e^{-(0.0497(t-0.2140)^{0.4667}})]$	0.9245

最佳,释放以浓度差驱动的一级动力学为主,K-P模型 n 值(0.267 1)支持扩散作用。而在 pH 为 5.50,Weibull 模型拟合最优($R^2=0.924 5$),K-P 模型 n 值(0.346 1)表明扩散为主要驱动力,同时可能存在少量骨架溶蚀,释放过程符合 Weibull 分布特征。pH 响应可通过改变载体溶蚀、药物溶解/解离,调控释放机制,让药物在肿瘤微环境精准释药,提升疗效、降低副作用。

2.4 载体安全性及载药颗粒抗癌活性

通过检测不同浓度(0、12.5、25、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的 MPPR 对 LX2 和 LM3 细胞相对生长率(RGR)的影响,评估其细胞毒性:如图 10(a)所示,低浓度时,两种细胞 RGR 均维持较高水平;中浓度下,LX2 生长稳定,LM3 的 RGR 小幅下降;高浓度时,LX2 的 RGR 变化不大,LM3 的 RGR 降低,表现出对 LM3 的选择性抑制。在 0~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,细胞相对增殖率均>75%,表明 MPPR 细胞毒性低、生物安全性良好。图 10(b)载药颗粒抗癌活性实验显示,0~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下,PUE 组增殖率从 100%降至 50.12%,MPPR-PUE 组从 100%降至 32.47%,这证实 PUE 及 MPPR-PUE 均可抑制癌细胞增殖,且 MPPR-PUE 的抑制效果更显著。



(a) 不同浓度载体对细胞增殖率的影响

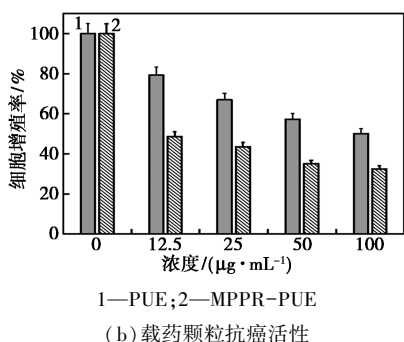
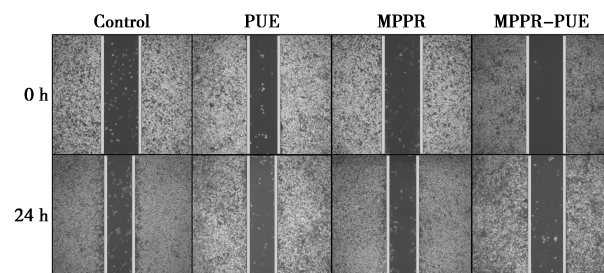


图 10 CCK8 细胞实验图

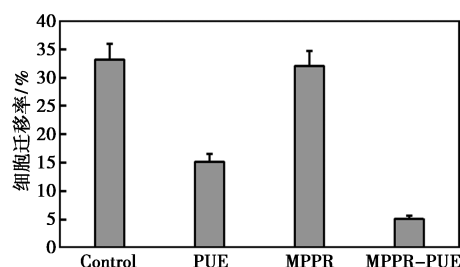
2.5 细胞迁移

在 LM3 细胞划痕实验中,通过图 11(a)划痕图及图 11(b)细胞迁移率数据分析可知:MPPR-

PUE 组细胞迁移率最低(平均约 5.03%),24 h 后划痕愈合最少,对 LM3 细胞迁移抑制最强;PUE 组迁移率(平均约 15.13%)显著低于正常组与 MPPR 组,结果表明 PUE 也能抑制癌细胞的迁移;MPPR 组迁移率(平均约 32.03%)接近正常组(平均 33.14%),对癌细胞的迁移抑制作用弱。因此,MPPR-PUE 组显著抑制 LM3 细胞迁移,效果优于 PUE 组。



(a) LM3 细胞划痕实验图



(b) LM3 细胞迁移率

图 11 LM3 细胞迁移实验图

3 结论

本项目基于二硫化钼,对其进行功能化修饰后,制备得到了药物载体(MPPR),并对其进行了结构和形貌表征以及体外载药与释药性能、安全性评价研究。药物载体(MPPR)结合葛根素 PUE,具有较好的载药性能,载药量达到 $46.91\% \pm 3.27\%$,封装率达到 $82.52\% \pm 0.82\%$ 。体外释药实验表明载药体系具有 pH 响应,在 pH 为 5.50 的 PBS 溶液中,24 h 后药物的释放率可以达到 $61.60\% \pm 5.01\%$,具有较好的药物释放性能。CCK8 法测定药物载体 MPPR 和载药颗粒 MPPR-PUE 对细胞增殖的影响,在载体浓度 0~100.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,MPPR 细胞毒性小;MPPR-PUE 对肝癌细胞增殖抑制效果最好,并通过细胞划痕实验,得到 MPPR-PUE 对肝癌细胞具有抑制迁移的作用。本研究所构建的纳米载体在药物递送系统中具有一定的应用前景。

参考文献

[1] 孟晓伟,郭风梅,王倩倩,等.葛根素的药理作用研究进展[J].

- 中国中药杂志, 2025, 50(11): 2954-2968.
- [2] Hu Z, Chen D, Yan P, *et al.* Puerarin suppresses macrophage M1 polarization to alleviate renal inflammatory injury through antagonizing TLR4/MyD88-mediated NF- κ B p65 and JNK/FoxO1 activation [J]. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 2024, 132: 155813.
- [3] Manikanta M, Vikas S, Pramila C, *et al.* A critical review on anti-cancer mechanisms of natural flavonoid puerarin [J]. *Anti-Cancer Agents In Medicinal Chemistry*, 2020, 20(6): 678-686.
- [4] Bashir A, Suliman K, Yang L, *et al.* Molecular mechanisms of anti-cancer activities of puerarin [J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12: 79-90.
- [5] Hu Y, Hu C, Lei H, *et al.* Puerarin inhibits the progression of hepatic carcinoma by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis [J]. *Asian Journal of Surgery*, 2024, 47(9): 4102-4103.
- [6] Zhou Y, Xue R, Wang J, *et al.* Puerarin inhibits hepatocellular carcinoma invasion and metastasis through miR-21-mediated PTEN/AKT signaling to suppress the epithelial-mesenchymal transition [J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2020, 53(4): 8882.
- [7] Salimi M, Shokrgozar M A, Hamid D H, *et al.* Photothermal properties of two-dimensional molybdenum disulfide (MoS₂) with nanoflower and nanosheet morphology [J]. *Materials Research Bulletin*, 2022, 152: 111837.
- [8] Cao M, Cai R, Zhao L, *et al.* Molybdenum derived from nanomaterials incorporates into molybdenum enzymes and affects their activities in vivo [J]. *Nature Nanotechnology*, 2021, 16(6): 708-716.
- [9] Santra S, Ali S M, Karmakar S, *et al.* Molybdenum disulfide: A nanomaterial that is paving the way toward a sustainable future [J]. *Materials Today Sustainability*, 2024, 25: 100659.
- [10] Zhang X, Wu J, Williams G R, *et al.* Functionalized MoS₂-nanosheets for targeted drug delivery and chemo-photothermal therapy [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, 173: 101-108.
- [11] Li Q D, Zhao Y, Ling C, *et al.* Towards a comprehensive understanding of the reaction mechanisms between defective MoS₂ and thiol molecules [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017, 129(35): 10637-10641.
- [12] 李伟杰, 刘剑桥, 郭坤, 等. 普朗尼克胶束用于抗癌药物阿霉素的负载和释放 [J]. *高分子材料科学与工程*, 2021, 37(4): 151-157.
- [13] Narayan H, Jangid K A, Sharma R J, *et al.* Amphiphilic pluronic F68 biomaterial augmented oral bioavailability and anticancer activity of genistein in lung cancer treatment [J]. *Polymers for Advanced Technologies*, 2024, 35(8): e6553.
- [14] Yi D, Yazdani Y. Mitochondria targeting based of paclitaxel loaded triphenylphosphine pluronic F127-hyaluronic acid nanomicelles in multi-drug resistant hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2022, 18(5): 1325-1333.
- [15] Lee S J, Jeon H, Oh H, *et al.* Pluronic-coated hydroxypropyl- β -cyclodextrin nanoparticle potentiated chemotherapy on multidrug resistance cancer cells via improved docetaxel loading and P-glycoprotein inhibition [J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2024, 94: 105511.
- [16] 杨峥, 郭占林, 王宇飞. 整合素 $\alpha_v\beta_3$ 与肿瘤关系的研究进展 [J]. *内蒙古医科大学学报*, 2022, 44(6): 660-663.
- [17] Kottmann V, Kolpeja E, Baumkötter G, *et al.* Bone sialoprotein stimulates cancer cell adhesion through the RGD motif and the $\alpha_v\beta_3$ and $\alpha_5\beta_1$ integrin receptors [J]. *Oncology Letters*, 2024, 28(5): 542.
- [18] 刘玉鑫, 黎桦, 刘磊, 等. 整合素在肝癌中的作用机制 [J]. *医学信息*, 2023, 36(15): 183-187.
- [19] Wei M, Lu T, Nong Z, *et al.* Reductive response and RGD targeting nano-graphene oxide drug delivery system [J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2019, 53: 101202.
- [20] Guo L, Fayan M, Taicheng L, *et al.* Functionalised molybdenum disulfide nanosheets for co-delivery of doxorubicin and siRNA for combined chemo/gene/photothermal therapy on multidrug-resistant cancer [J]. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2021, 73(8): 1128-1135.
- [21] 汪河滨, 李洋, 刘馨刚, 等. 普朗尼克-聚亚胺胺纳米胶束的制备及其细胞生物学特性 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2017, 46(2): 125-134.
- [22] 路诗佳, 李国飞. 基于微环境特点构建的纳米递药系统在肝癌治疗中的研究进展 [J]. *中国药理学杂志*, 2023, 58(16): 1447-1456.
- [23] Paolo T. Drug carriers: A review on the most used mathematical models for drug release [J]. *Processes*, 2022, 10(6): 1094. ■
- (上接第 121 页)
- [16] Sun J A, Bi Z, Hou B, *et al.* Further treatment of decolorization liquid of azo dye coupled with increased power production using microbial fuel cell equipped with an aerobic biocathode [J]. *Water Research*, 2011, 45(1): 283-291.
- [17] Ganiyu S O, Le T X H, Bechelany M, *et al.* A hierarchical CoFe-layered double hydroxide modified carbon-felt cathode for heterogeneous electro-Fenton process [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2017, 5(7): 3655-3666.
- [18] Ganiyu O S, Le H X T, Bechelany M, *et al.* Electrochemical mineralization of sulfamethoxazole over wide pH range using Fe II/Fe III LDH modified carbon felt cathode: Degradation pathway, toxicity and reusability of the modified cathode [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 350: 844-855.
- [19] Wu Y, Wang H, Sun Y M, *et al.* Photogenerated charge transfer via interfacial internal electric field for significantly improved photocatalysis in direct Z-scheme oxygen-doped carbon nitrogen/CoAl-layered double hydroxide heterojunction [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2018, 227: 530-540.
- [20] Wang A M, Qu J H, Ru J, *et al.* Mineralization of an azo dye Acid Red 14 by electro-Fenton's reagent using an activated carbon fiber cathode [J]. *Dyes and Pigments*, 2004, 65(3): 227-233.
- [21] Li X H, Jin X D, Zhao N N, *et al.* Efficient treatment of aniline containing wastewater in bipolar membrane microbial electrolysis cell-Fenton system [J]. *Water Research*, 2017, 119: 67-72.
- [22] Wang Y T, Wang Y K. Investigation of the lamination of electrospun graphene-poly(vinyl alcohol) composite onto an electrode of bio-electro-Fenton microbial fuel cell [J]. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 2017, 7(7): 147-158.
- [23] Yu D H, He J G, Wang Z Y, *et al.* Mineralization of norfloxacin in a CoFe-LDH/CF cathode-based heterogeneous electro-fenton system: Preparation parameter optimization of the cathode and conversion mechanisms of H₂O₂ to \cdot OH [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 417: 129240.
- [24] Dugandžić M A, Tomašević V A, Radišić M M, *et al.* Effect of inorganic ions, photosensitisers and scavengers on the photocatalytic degradation of nicosulfuron [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 2017, 336: 146-155. ■