基于 Con A 门控分子的甘露糖响应型介孔二氧化硅纳米控制释放体系

罗洁蓉^{①†}, 邹振^{①†}, 何晓晓^{①*}, 王柯敏^{①②*}, 何定庚^②, 杨雪^①, 李学财^①, 蒋晓春^①

① 湖南大学生物学院, 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 生物纳米与分子工程湖南省重点实验室, 长沙 410082;

② 湖南大学化学化工学院, 长沙 410082

* 联系人, E-mail: xiaoxiaohe@hnu.edu.cn; kmwang@hnu.edu.cn

2013-12-27 收稿, 2014-02-19 接受, 2014-05-07 网络版发表

国家自然科学基金(21190044, 21175039, 21322509, 21305035, 21305038, 21190044, 21221003)、湖南省科技计划(2012TT1003)和国家大学生创新性实验计划(201210532075)资助

摘要 选择凝集素伴刀豆球蛋白 A(Con A)作为门控分子, 利用甘露糖和葡萄糖与 Con A 竞争性结合的特性, 构建了一种新型的 Con A 封堵介孔二氧化硅(MSN)的甘露糖刺激响应型控制释放体系. 在该体系中, 氨基葡萄糖首先与氰基修饰的 MSN 交联合成表面葡萄糖功能化的 MSN, 然后通过葡萄糖与 Con A 的多价结合作用使 Con A 固定到 MSN 表面, 封堵介孔, 形成 Con A 封堵 MSN 的甘露糖刺激响应型控制释放体系(MSN-Glc-Con A). 利用电子显微镜、热重分析、X 射线衍射、红外光谱和比表面积分析等手段表征了该纳米控制释放体系的制备过程, 并且以联吡啶染料分子作为模式客体分子, 研究了模式客体分子在该体系中的包裹及甘露糖调控下的刺激响应释放行为. 实验结果表明, 该体系具有较高的包载量($89.90 \pm 7.73 \mu\text{mol/g SiO}_2$)和良好的甘露糖刺激响应释放行为. 在没有甘露糖存在时, Con A 能有效封堵介孔, 使包载的染料分子几乎无释放; 在甘露糖存在的条件下, 甘露糖与 Con A 发生竞争性结合, Con A 从 MSN 表面脱离, 介孔打开, 染料分子释放. 染料分子的释放率呈浓度依赖性和时间依赖性, 在 40 mmol/L 甘露糖的条件下, 340 min 内染料分子释放率超过 90%. 该体系是一种理想的糖刺激响应控制释放载体, 有望实现在药物运输领域的应用.

关键词

伴刀豆球蛋白
甘露糖
竞争性结合
介孔二氧化硅
控制释放

纳米药物控制释放系统可以实现药物在病灶部位的靶向释放, 有利于提高药效、降低药物的毒副作用, 在疾病诊疗和医疗保健等方面具有诱人的发展潜力和广阔的应用前景. 介孔二氧化硅(MSN)由于具有大的比表面积和介孔体积、均一的多孔性、稳定的物理和化学性质、可调的介孔直径(2~10 nm)、易表面修饰及良好的生物相容性等诸多优点^[1-3], 已成为多学科与技术领域的研究热点. 近年来, 许多基于 MSN 的控制释放体系被报道^[4,5], 这些体系多采用有机小分子、聚合物、纳米颗粒、自组装超分子等^[6-8]

作为门控分子封堵介孔, 然后通过 pH ^[9-11]、温度^[12]、光照^[13-15]、竞争反应^[16]、氧化还原反应^[17-19]等刺激释放装载的客体分子. 尽管这些已发展的载体系统展现了良好的刺激响应释放行为, 但是直接利用生物分子作为门控分子, 生物内源性物质(如生物代谢产物、生物小分子等)刺激响应的 MSN 的控制释放系统依然处于起步阶段.

糖作为生命活动的 3 类主要生物分子之一, 是细胞和生物体生命活动的主要能源物质. 糖能够与多种生物分子如蛋白质发生特异性识别作用, 在细胞

引用格式: 罗洁蓉, 邹振, 何晓晓, 等. 基于 Con A 门控分子的甘露糖响应型介孔二氧化硅纳米控制释放体系. 科学通报, 2014, 59: 1707-1714

Luo J R, Zou Z, He X X, et al. A mannose-responsive controlled-release system based on Con A-gated mesoporous silica nanocontainers (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2014, 59: 1707-1714, doi: 10.1360/972013-1311

生长、免疫应答及细胞间信息传递等生理过程中起着至关重要的作用^[20]. 甘露糖(mannose)作为其中一种重要的内源性糖广泛分布于体液和组织中,其直接被利用合成糖蛋白,参与免疫调节. 甘露糖糖链与细胞的黏附、运动、分子识别及细胞识别息息相关^[21]. 许多疾病(如炎症、自身免疫疾病、癌细胞的异常增殖和转移等)的产生都与糖链结构的改变有关. 因此,寻找对甘露糖特异性识别的门控分子并设计甘露糖响应控制释放体系具有重要的现实意义.

凝集素是一类能与糖专一地、非共价地可逆结合的蛋白质,其和糖结合的专一性类似于抗原抗体反应^[22]. 其中,伴刀豆球蛋白A(Con A)是一种从大豆中提取来的植物凝集素,能与甘露糖和葡萄糖(glucose, Glc)特异性结合,并且Con A与甘露糖结合力强于和葡萄糖的结合力^[23,24]. 此外,研究表明Con A能选择性地激活抑制性T细胞,对调节体液或细胞性免疫反应,维护机体正常的免疫自稳机制具有重大作用. 通过这一途径,有望使一些自身免疫性疾病、恶性肿瘤或移植排斥反应的防治前景得到改善^[25]. 因此,使用Con A作为MSN控制释放体系的门控分子是一种很好的策略,既使体系生物毒性低,又能对糖有选择性响应,还能对某些疾病具有协同治疗效果^[26]. 然而,基于Con A和糖的识别作用发展的控制释放体系还很少被报道.

基于此,我们以MCM-41型MSN为载体,选择Con A作为门控分子,甘露糖作为刺激响应分子发展了一种新型的MSN控制释放载药体系. 该体系在无甘露糖条件下,修饰在MSN表面的葡萄糖通过多价结合的方式将Con A固定到颗粒表面封堵介孔,当加入甘露糖后,甘露糖与Con A发生竞争性结合,使Con A离开MSN表面,介孔打开,装载的客体分子释放. 通过以联吡啶染料分子作为模式客体分子,研究了甘露糖调控下模式客体分子的包裹及释放行为.

1 实验

(i) 联吡啶钌($[\text{Ru}(\text{bipy})_3]\text{Cl}_2$), Con A, *D*-(+)-氨基葡萄糖盐酸盐均购于Sigma-Aldrich公司(美国); 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、(3-异氰酸丙基)三乙氧基硅烷(Alfa Aesar公司, 中国); 实验用水为超纯水(18.2 M Ω); 其他试剂均为国产分析纯.

CR22G型高速离心机(Hitachi公司, 日本); 恒温摇床(Grant公司, 美国); 荧光分光光度计(Hitachi公

司, 日本); X射线衍射仪(XRD, 岛津国际贸易有限公司, 日本); S-4800型扫描电子显微镜(SEM, 日立公司, 日本); JEM-3010型透射电子显微镜(TEM, 日本电子公司, 日本); 比表面积分析仪(北京贝士德仪器科技有限公司, 中国); 傅里叶变换红外光谱仪(FTIR, Bruker公司, 德国); 紫外-可见分光光度计(Beckman公司, 美国); Zetasizer 3000 HS分析仪(Malvern公司, 英国); 高温/超高温同步热分析仪(Setaram公司, 法国).

(ii) 葡萄糖功能化MSN(MSN-Glc)的制备. 首先参照文献[27]方法合成MCM-41型MSN. 将1.00 g CTAB溶解于480 mL去离子水中,加入3.5 mL 2 mol/L的NaOH溶液,混匀后将混合溶液升温至80℃. 将5.00 mL正硅酸乙酯(TEOS)滴加到混合溶液中,搅拌2 h得白色沉淀. 高速离心分离固体产物,依次用去离子水和乙醇洗涤3次. 为了除去模板CTAB,弃上清后将样品分散于80 mL无水乙醇中,加入0.80 mL 37.2% HCl,在80℃下搅拌回流16 h. 高速离心分离产物,用无水乙醇和超纯水各洗涤3次后,将其真空冷冻干燥过夜,得到MCM-41型MSN. 称取100 mg已干燥的样品MSN,分散于80 mL甲苯中,加入0.25 mL(3-异氰酸丙基)三乙氧基硅烷,并于118℃下搅拌回流20 h后,用旋转蒸发仪除去溶剂甲苯,获得氰酰基修饰的MSN(MSN-NCO). 随后将固体颗粒分散于2 mL乙腈中,加入0.2155 g *D*-(+)-氨基葡萄糖盐酸盐溶解于溶液中,置于恒温摇床反应过夜(180 r/min, 25℃). 反应结束后,高速离心分离产物,用乙腈洗涤2次后,再用无水乙醇洗涤1次,获得MSN-Glc.

(iii) 联吡啶钌染料的包载及Con A对介孔的封堵. 称取5 mg MSN-Glc分散于500 μL 10 mmol/L的联吡啶钌溶液中,在摇床中孵育24 h后离心并弃去上清,将包载染料的MSN-Glc分散于含有0.1 mmol/L Ca^{2+} , 0.1 mmol/L Mn^{2+} 和40 mg/mL Con A的3-(*N*-吗啉基)丙磺酸(MOPS)缓冲液中,4℃下孵育24 h后,冷冻高速离心分离,并用MOPS缓冲液洗涤3次,真空冷冻干燥过夜,即获得包载有联吡啶钌染料的Con A封堵的MSN(Ru-MSN-Glc-Con A).

(iv) 联吡啶钌染料包载量和包封率的测定. 采用标准曲线法,首先配置一系列已知浓度的联吡啶钌溶液,分别测其吸光度,以浓度-吸光度作联吡啶钌的标准曲线,并拟合标准方程. 采用“碱破壳”方法

测定包载量和包封率, 具体步骤如下: 取 2 mg Ru-MSN-Glc-Con A 颗粒加入 0.5 mL 2 mol/L NaOH 溶液反应 4 h 使硅壳完全溶解, 再加入 0.5 mL 2 mol/L HCl 溶液调节 pH, 用紫外-可见分光光度计测定吸光度, 根据标准方程得到联吡啶钌的浓度, 分别按照下面的公式计算获得 Con A 封堵的 MSN 控制释放体系 (MSN-Glc-Con A) 的包载量和包封率:

包载量 = 颗粒中染料的摩尔浓度/称取的颗粒的质量浓度,

包封率(%) = (颗粒上的染料量/实际投入的染料量) × 100%.

(v) 联吡啶钌染料的甘露糖刺激响应释放行为研究. 取 0.5 mg Ru-MSN-Glc-Con A 置于石英比色皿底部, 分别加入浓度为 0, 10, 20, 40 mmol/L 的 *D*-甘露糖, 并在 $\lambda = 451$ nm 的激发波长下每隔 20 min 用荧光分光光度计检测上清液中联吡啶钌的荧光强度, 设定检测波长为 610 nm. 最后, 以时间-释放百分比为横纵坐标作不同 *D*-甘露糖浓度下 MSN-Glc-

Con A 的释放动力学曲线.

2 结果与讨论

2.1 甘露糖响应的 MSN 控制释放体系设计原理

以 Con A 为门控分子的 *D*-甘露糖浓度响应的 MSN 制备与控制释放原理如图 1 所示, 在合成 MSN 后, 采用(3-异氰酸丙基)三乙氧基硅烷化试剂对 MSN 进行氰酰基修饰, 然后在乙腈中通过氰酰基和氨基葡萄糖的氨基反应, 得到 MSN-Glc. 以大豆凝集 Con A 作为封堵分子, 使之与 MSN 表面的葡萄糖多价结合并有效封堵介孔, 形成 MSN-Glc-Con A, 有效防止客体分子的泄漏; 在甘露糖存在的条件下, 由于甘露糖和 Con A 的结合力更强, 原本与 Con A 上糖结合位点结合的葡萄糖被甘露糖取代, 使 MSN 表面的 Con A 被竞争下来, 进而打开介孔, 释放装载的客体分子. 为了更好地展现客体分子的包载与释放过程, 选用荧光性质稳定且水溶性好的联吡啶钌染料分子作为模式客体分子开展实验.

图 1 (网络版彩色)基于 Con A 门控分子的甘露糖响应型介孔二氧化硅纳米控制释放体系原理图

(a) MSN-Glc-Con A 合成过程: (1) (3-异氰酸丙基)三乙氧基硅烷修饰; (2) 氨基葡萄糖交联; (3) Con A 包裹. (b) MSN-Glc 及 MSN-Glc-Con A 的高倍 TEM 图像. (c) Con A 对包载联吡啶钌染料的 MSN-Glc 的包裹及其在 *D*-甘露糖刺激响应下联吡啶钌的释放示意图

2.2 甘露糖响应的 MSN 控制释放体系的合成与表征

首先, 利用文献[27]报道的方法合成了 MCM-41 型 MSN, 并通过 SEM, TEM, XRD, 氮气吸附解析等进行结构和形态表征. MSN 的 SEM, TEM 表征和水粒径测定结果如图 2 所示. 从图 2(a)可知, 所合成的颗粒为球形, 且具有很窄的粒径分布. TEM 结果表明, 所合成的 MSN 具有典型的六边形介孔通道结构,

颗粒的尺寸约为 110 nm(图 2(b)). 小角 XRD 谱数据显示在 $2^\circ < 2\theta < 8^\circ$ 之间显示 3 个衍射峰, 分别为 (100), (110) 和 (200), 为典型的 MCM-41 型 MSN 的 XRD 谱(图 3(a)). 同时, 图 3(b)中氮气吸附解析结果显示颗粒的吸附-脱附等温线是介孔物质吸附曲线, 为 Langmuir IV 曲线, 并且在相对压力为 0.2~0.4 区间内有明显的突跃, 从另一方面证明颗粒具有典型的 MCM-41 介孔结构, 利用 Brunauer-Emmett-Teller (BET)模型求得 MSN 的比表面积为 $1039.409 \text{ m}^2/\text{g}$,

图 2 (网络版彩色)MSN 的(a) SEM; (b) TEM; (c) 水合粒径分布

图 3 MSN 的(a)XRD 图谱和(b)氮气吸附与脱附曲线

(b)中内插图为 BJH 孔径分布曲线

Barrett-Joyner-Halenda (BJH)曲线显示颗粒具有狭窄的介孔尺寸分布,平均介孔直径为 2.189 nm,孔容为 0.866 cm³/g.

随后,将合成的 MSN 修饰氰酰基,并在乙腈中用氨基葡萄糖对颗粒表面进行葡萄糖功能化.加入 Con A,利用其与颗粒表面葡萄糖的多价结合作用,使 Con A 固定到颗粒表面封堵介孔.通过 TEM,FTIR 和综合热分析仪表征 MSN 在修饰前后的变化.如图 1(b)所示,葡萄糖功能化后的 MSN 颗粒表面变得粗糙,但介孔结构依然清晰可见,当加入门控分子 Con A 后,由于大量 Con A 固定到颗粒表面,颗粒表面更粗糙,介孔结构也被蛋白覆盖.ζ 电位测定结果显示,MSN 在分别经过葡萄糖功能化和 Con A 封堵后电位发生了变化(图 4),MSN,MSN-Glc,MSN-Glc-Con A 的 ζ 电位分别为-37,-21.1 和-13.7 mV,以上结果表明,葡萄糖和 Con A 成功修饰到颗粒表面.Con A 的修饰也通过 FTIR 得到证实,如图 5(a)所示,颗粒 MSN-Glc-Con A 在 1648 和 1540 cm⁻¹处有很强的吸收峰,分别代表酰胺键 I 和酰胺键 II 的伸缩振动,另

外,颗粒在 3330 cm⁻¹有明显的 N-H 伸缩振动吸收峰,这是由于 Con A 是蛋白质,含有大量酰胺键和氨基,当 Con A 固定到了颗粒表面,相应的红外吸收峰会大大增强.同时,通过热重分析可知,颗粒 MSN,MSN-Glc,MSN-Glc-Con A 在 1000℃时质量分别损失 8.2%,17.8%和 33%,Glc 和 Con A 的修饰量分别为 0.538 mmol/g SiO₂ 和 1.49 μmol/g SiO₂(图 5(b)).

2.3 客体分子的装载

为了验证该释放体系的封堵效果和甘露糖刺激释放效果,选择荧光性质优良且水溶性好的联吡啶钆染料作为模式客体分子,通过扩散作用把染料装载到 MSN-Glc 的孔道中,随后加入 Con A 通过多价结合连接到颗粒表面封堵介孔.如图 6(a)所示,MSN-Glc-Con A 体系对联吡啶钆染料的包载量和包封率通过比色法测得:配制一系列浓度的联吡啶钆溶液,用紫外-可见分光光度计测定其吸光度.根据浓度-吸光度的对应关系作标准曲线,得到标准方程: $y = 0.1204x + 0.0787$,相关系数 $R^2 = 0.9983$.随后采用“碱破壳”

图 4 (网络版彩色)MSN 修饰前后的 Zeta 电位变化

图 5 MSN 修饰前后的(a)FTIR 图谱和(b)热重分析图谱

图 6 (网络版彩色)(a) 联吡啶钌溶液的标准曲线; (b) $0.1 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$ 和 $0.1 \text{ mmol/L Mn}^{2+}$ 对联吡啶钌荧光的影响
(a)中内插图表示 Con A 封堵联吡啶钌装载的 MSN-Glc 的照片. a1, Ru-MSN-Glc-Con A 分散在 MOPS 缓冲液中 4 h 后; a2, Ru-MSN-Glc-Con A 分散在 MOPS 缓冲液中 4 h 后离心

的方法溶解颗粒, 调节 pH 为中性后, 测定颗粒中包裹的联吡啶钌的吸光度, 最后利用标准曲线计算出联吡啶钌的浓度. 根据包载量和包封率的定义计算得出二者分别为 $89.90 \pm 7.73 \mu\text{mol/g SiO}_2$ 和 $64.79\% \pm 3.68\%$. 另外, 将 Ru-MSN-Glc-Con A 颗粒分散在 MOPS 缓冲液中, 4 h 后离心, 上清液几乎没有联吡啶钌的颜色, 这一结果不仅表明 Con A 能很好地封堵介孔, 防止客体分子的释放, 而且证明该释放体系具有较好的稳定性. 为了考察 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 对联吡啶钌荧光的影响, 将 $0.1 \text{ mmol/L Ca}^{2+}$, $0.1 \text{ mmol/L Mn}^{2+}$ 加入联吡啶钌溶液中, 结果如图 6(b)所示, 金属离子 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 的加入对联吡啶钌的荧光几乎没有影响.

2.4 甘露糖刺激释放行为考察

为了验证该释放体系对 D-甘露糖浓度的刺激响应性, 将 Ru-MSN-Glc-Con A 颗粒浸泡在含有 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 的 MOPS 缓冲液中, 检测在 451 nm 的激发下上清液中联吡啶钌的荧光强度. 结果如图 7(a)所示, 0~100 min 内上清液的荧光强度几乎没有增大, 表明没有甘露糖存在的条件下, Con A 与葡萄糖的多价结合能有效地封堵介孔, 阻止装载的染料分子释放. 100 min 后加入甘露糖, 上清液的荧光强度随时间的延长而逐渐增大, 直至 440 min 荧光强度不再变化, 表明甘露糖可以成功将 Con A 从颗粒表面竞争下来,

图 7 (网络版彩色)(a) Ru-MSN-Glc-Con A 中的联吡啶钌在含有 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 的 MOPS 缓冲液中随时间的释放情况, 100 min 时加入 40 mmol/L D-甘露糖 ; (b) Ru-MSN-Glc-Con A 在不同 D-甘露糖浓度下的释放曲线

使介孔打开, 联吡啶钉逐渐被释放. 此外, 本文还考察了 Ru-MSN-Glc-Con A 在不同甘露糖浓度下的缓释行为. 如图 7(b)所示, 在没有甘露糖存在时, Ru-MSN-Glc-Con A 中的染料释放量不足 5%. 随着甘露糖浓度的增加, 在同样时间内释放的联吡啶钉增多, 当甘露糖浓度达到 40 mmol/L 时, 在 340 min 内超过 90% 的联吡啶钉分子释放. 由此可见, 联吡啶钉的释放过程具有时间依赖性和甘露糖浓度依赖性.

3 结论

利用甘露糖和葡萄糖对凝集素 Con A 的竞争性结合的原理, 构建了一种基于 Con A 封堵 MSN 的甘

露糖刺激响应控制释放体系. 在该体系中, Con A 通过与功能化 MSN 表面葡萄糖的多价结合封堵介孔, 防止客体分子泄漏. 选择联吡啶钉分子作为模式客体分子装载到 MSN 孔道中. 当甘露糖存在时, 甘露糖与 Con A 竞争性结合并离开颗粒表面, 导致联吡啶钉染料的释放. 实验结果表明该体系具有较高的包载量($89.90 \pm 7.73 \mu\text{mol/g}$)和良好的甘露糖刺激响应释放行为. 在没有甘露糖存在时, 染料几乎无释放, 而在甘露糖浓度为 40 mmol/L 时, 在 340 min 内联吡啶钉分子释放率超过 90%. 该体系生物相容性好、包载量大、稳定性好, 有望用于特定部位的药物传递.

参考文献

- 1 Tang F, Li L, Chen D. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery. *Adv Mater*, 2012, 24: 1504–1534
- 2 Lee J E, Lee N, Kim T, et al. Multifunctional mesoporous silica nanocomposite nanoparticles for theranostic applications. *Accounts Chem Res*, 2011, 44: 893–902
- 3 Li Z, Barnes J C, Bosoy A, et al. Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2590–2605
- 4 Ambrogio M W, Thomas C R, Zhao Y L, et al. Mechanized silica nanoparticles: A new frontier in theranostic nanomedicine. *Accounts Chem Res*, 2011, 44: 903–913
- 5 Yang P, Gai S, Lin J. Functionalized mesoporous silica materials for controlled drug delivery. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 3679–3698
- 6 Cui W, Lu X, Cui K, et al. Dual-responsive controlled drug delivery based on ionically assembled nanoparticles. *Langmuir*, 2012, 28: 9413–9420
- 7 Zhang J, Yuan Z F, Wang Y, et al. Multifunctional envelope-type mesoporous silica nanoparticles for tumor-triggered targeting drug delivery. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 5068–5073
- 8 Liu R, Zhang Y, Zhao X, et al. pH-responsive nanogated ensemble based on gold-capped mesoporous silica through an acid-labile acetal linker. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 1500–1501
- 9 Liu R, Liao P, Liu J, et al. Responsive polymer-coated mesoporous silica as a pH-sensitive nanocarrier for controlled release. *Langmuir*, 2011, 27: 3095–3099
- 10 Guille-Nicolas R, Popat A, Bridot J L, et al. pH-responsive nutraceutical-mesoporous silica nanoconjugates with enhanced colloidal stability. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 2318–2322
- 11 Xue M, Findenegg G H. Lysozyme as a pH-responsive valve for the controlled release of guest molecules from mesoporous silica. *Langmuir*, 2012, 28: 17578–17584
- 12 Kang X, Cheng Z, Yang D, et al. Design and synthesis of multifunctional drug carriers based on luminescent rattle-type mesoporous silica microspheres with a thermosensitive hydrogel as a controlled switch. *Adv Funct Mater*, 2012, 22: 1470–1481
- 13 Liu J, Bu W, Pan L, et al. NIR-triggered anticancer drug delivery by upconverting nanoparticles with integrated azobenzene-modified mesoporous silica. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 4375–4379
- 14 Yan H, Teh C, Sreejith S, et al. Functional mesoporous silica nanoparticles for photothermal-controlled drug delivery *in vivo*. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 8373–8377
- 15 Yang J, Shen D, Zhou L, et al. Spatially confined fabrication of core-shell gold nanocages@mesoporous silica for near-infrared controlled photothermal drug release. *Chem Mater*, 2013, 25: 3030–3037
- 16 He D, He X, Wang K, et al. Reversible stimuli-responsive controlled release using mesoporous silica nanoparticles functionalized with a smart DNA molecule-gated switch. *J Mater Chem*, 2012, 22: 14715–14721
- 17 Yuan L, Chen W, Hu J, et al. Mechanistic study of the covalent loading of paclitaxel via disulfide linkers for controlled drug release. *Langmuir*, 2013, 29: 734–743
- 18 Zhang Q, Liu F, Nguyen K T, et al. Multifunctional mesoporous silica nanoparticles for cancer-targeted and controlled drug delivery. *Adv Funct Mater*, 2012, 22: 5144–5156

- 19 Luo Z, Cai K, Hu Y, et al. Mesoporous silica nanoparticles end-capped with collagen: Redox-responsive nanoreservoirs for targeted drug delivery. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 640–643
- 20 Bertozzi C R, Kiessling L L. Chemical glycobiology. *Science*, 2001, 291: 2357–2364
- 21 Muchmore A V, Decker J M, Blaese R M, et al. Purification and characterization of a mannose-containing disaccharide obtained from human pregnancy urine. A new immunoregulatory saccharide. *J Exp Med*, 1984, 160: 1672–1685
- 22 Rüdiger H. Plant lectins—more than just tools for glycoscientists: Occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. *Cells Tissues Organs*, 1998, 161: 130–152
- 23 Becker J W, Reeke G N, Cunningham B A, et al. New evidence on the location of the saccharide-binding site of concanavalin A. *Nature*, 1976, 259: 406–409
- 24 Edelman G M, Cunningham B A, Reeke G N, et al. The covalent and three-dimensional structure of concanavalin A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1972, 69: 2580–2584
- 25 Wu S, Huang X, Du X. Glucose- and pH-responsive controlled release of cargo from protein-gated carbohydrate-functionalized mesoporous silica nanocontainers. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 5580–5584
- 26 郑家驹, 王少华, 杨嗣坤. 刀豆球蛋白 A 及其生物学意义. *国际免疫学杂志*, 1981, 6: 4
- 27 Lai C Y, Trewyn B G, Jęftinija D M, et al. A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 4451–4459

A mannose-responsive controlled-release system based on Con A-gated mesoporous silica nanocontainers

LUO JieRong¹, ZOU Zhen¹, HE XiaoXiao¹, WANG KeMin^{1,2}, HE DingGeng², YANG Xue¹, LI XueCai¹ & JIANG XiaoChun¹

¹ College of Biology, State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Key Laboratory for Bio-Nanotechnology and Molecule Engineering of Hunan Province, Hunan University, Changsha 410082, China;

² College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China

In this work, a novel delivery system based on Concanavalin A (Con A)-gated glucose-functionalized mesoporous silica nanoparticle (MSN-Glc-Con A) was constructed for the mannose-responsive controlled release. In this system, glucose was firstly modified on the surface of mesoporous silica nanoparticles (MSN) through the crosslinking reaction between glucosamine and cyanato-functionalized MSN. Con A, a lectin, was subsequently bound the functionalized glucose epitopes through multivalent carbohydrate-protein interactions, resulting in blockage of pores and inhibition of guest molecules release. In the presence of mannose, the Con A competitively bound with mannose and got away from the pore of MSN because of higher affinity for mannose. Thus, the pores were uncapped and the entrapped guest molecules were released. The physical and chemical properties of the as-synthesized MSN were characterized by transmission electron microscopy, X-ray diffraction, Fourier transform Infrared spectroscopy, Brunauer-Emmett-Teller and thermogravimetric analysis. As a proof-of-principle, [Ru(bipy)₃]Cl₂ was selected as the model guest molecules, and the mannose-responsive loading and release of [Ru(bipy)₃]Cl₂ have been investigated. The results demonstrate that the system had excellent loading amount ($89.90 \pm 7.73 \mu\text{mol/g SiO}_2$) and good mannose-responsive release behavior. Release-profile studies in MOPS buffer showed that no [Ru(bipy)₃]Cl₂ leaked when the pore was closed and that release occurred immediately after adding mannose. The dye release percentage can over 90% after treatment with 40 mmol/L mannose for 340 min. This lectin-gated MSN delivery system is a promising candidate for therapeutic agent delivery.

concanavalin A, mannose, competitive binding, mesoporous silica, control release

doi: 10.1360/972013-1311