

学校编码：10384
学号：20520080150159

密级

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

复合金纳米棒的 LSPR 传感和复合纳米二氧化硅
药物控制释放体系研究

The research of composite gold nanorods in LSPR sensing
and composite silica nanoparticles in drug controlled release

李 翀

指导教师姓名： 赵一兵 教授
专 业 名 称： 分 析 化 学
论文提交日期： 2013 年 月
论文答辩时间： 2013 年 月
学位授予日期： 2013 年 月

答辩委员会主席： __

评阅人： __

2013 年 6 月

**The research of composite gold nanorods in LSPR sensing
and composite silica nanoparticles in drug controlled release**



A Dissertation Submitted to

Xiamen University

in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Doctor of Science

By

Chong Li

Supervisor: **Prof. Yibing Zhao**

Department of Chemistry

Xiamen University

June, 2013

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

摘 要.....	i
Abstract.....	iii
第一章 绪论	1
1.1 引言.....	1
1.2 LSPR 纳米传感材料概述.....	3
1.3 二氧化硅包裹的复合纳米材料概述.....	19
1.4 pH 响应型药物释放体系.....	24
1.5 论文思路, 内容及意义.....	29
第二章 基于单分散金纳米棒 LSPR 信号的生物巯基分子传感	31
2.1 前言.....	31
2.2 实验部分.....	32
2.3 实验结果与讨论.....	34
2.4 结论.....	42
第三章 基于超薄二氧化硅包裹的金纳米棒的 LSPR 传感技术研究.....	43
3.1 前言	43
3.2 超薄二氧化硅包裹的金纳米棒的合成与表征.....	45
3.3 基于超薄二氧化硅包裹的金纳米棒复合纳米颗粒的凝血酶 LSPR 均相传感系.....	60
3.4 基于超薄二氧化硅包裹的金纳米棒复合纳米颗粒的无标记均相免疫分析体系.....	67
3.5 基于金纳米棒的复合纳米颗粒在细胞成像中的应用.....	75
3.6 结论.....	82
第四章 金纳米棒超薄二氧化硅壳层生长过程的 LSPR 监测	83
4.1 前言.....	83
4.2 实验部分.....	84
4.3 结果与讨论.....	86
4.4 结论.....	97

第五章 基于核壳结构纳米二氧化硅颗粒构建的酸敏感药物控制释放和监测体系	99
5.1 前言.....	99
5.2 实验部分.....	102
5.3 结果与讨论	104
5.4 小结与展望.....	110
总结与展望	111
参考文献.....	112
博士期间已发表文章及奖励.....	124
致谢.....	125

厦门大学博硕士学位论文摘要

Contents

Abstract in Chinese	i
Abstract in English	iii
Chapter 1 Research Advances in Nobel Metal and Silica-functional Nanoparticles	1
1.1 Introduction	1
1.2 LSPR sensing nanoparticles	3
1.3 Silica coated nanoparticles	19
1.4 pH responsive drug release systems	24
1.5 Objectives, contents and significance of the dissertation	29
Chapter 2 LSPR Sensing of Biothiols Based on Noncoupled	31
2.1 Introduction	31
2.2 Experimental section	32
2.3 Experimental results and discussion	34
2.4 Conclusion	42
Chapter 3 LSPR Sensing Research Based on Ultrathin Silica Coated Gold Nanorods	43
3.1 Introduction	43
3.2 Synthesis and characterization of Au NRs@SiO₂	45
3.3 LSPR sensing of Thrombin based on noncoupled Au NRs@SiO₂	60
3.4 Label-free immunoassay based on noncoupled Au NRs@SiO₂	67
3.5 Application of noncoupled Au NRs@SiO₂ in cell image	75
3.6 Conclusion	82
Chapter 4 LSPR Reveals the Growth Process of Ultrathin Silica Shell on the Surface of Gold Nanorods	83
4.1 Introduction	83

4.2 Experimental section.....	84
4.3 Experimental results and discussion.....	86
4.4 Conclusion.....	97
Chapter 5 Application of core-shell silica nanoparticles in acid activated in drug delivery and monitoring.....	99
5.1 Introduction.....	99
5.2 Experimental section.....	102
5.3 Experimental results and discussion.....	104
5.4 Conclusion.....	110
Conclusions and prospect.....	111
References.....	112
Publication list and award.....	124
Acknowledgements.....	125

厦门大学博士学位论文摘要

摘 要

多功能复合纳米材料的设计、合成以及生物医学应用是化学、材料和生物医学等交叉领域的研究热点。近年来,新型多功能纳米材料特别是贵金属纳米材料和二氧化硅纳米材料在分子传感,生物成像、荧光传感、药物释放、组织工程以及医学诊断与治疗等生物医学领域中得到了广泛的应用,并极大地推动了相关领域的研究和发展。因此,本论文以金纳米棒、二氧化硅、聚合物分子、生物大分子、荧光分子以及药物分子等为结构单元,设计合成了多种基于复合金纳米棒表面等离子共振(LSPR)的传感探针和复合二氧化硅可控药物释放系统,并且进一步利用金纳米棒的独特性质研究了其复合纳米颗粒的生长动力学。

本论文共分为五章,包含以下主要研究内容:

第一章为前言,综述了 LSPR 基本原理, LSPR 传感材料及应用,二氧化硅包裹的复合纳米材料的设计、合成,以及生物医学应用,并提出了本论文的研究思路。

第二章提出了一种新型的巯基小分子的传感体系,利用金纳米棒独特的 LSPR 性质,合成了聚合物/金纳米棒复合纳米颗粒,并且利用 Au-S 原子之间的强相互作用以及聚合物分子对于不同大小的巯基分子的体积排阻效应,构建了基于聚合物/金纳米棒的巯基化合物传感体系,并进一步研究了巯基分子配体交换传感模式对于传感体系的干扰和影响。

第三章设计合成了超薄二氧化硅包裹的复合金纳米棒,并在二氧化硅表面修饰上特异性传感分子适配子/特异性分子,构建了对于生物大分子的特异性传感体系,并进一步探究了该体系在体内传感中应用的可行性。该体系主要有两大优势:一是利用超薄的二氧化硅壳层有效地阻止了传感体系中非目标巯基化合物与金纳米棒表面的配体交换和特异性相互作用,大大提高了利用金纳米棒传感的选择性和特异性;二是超薄二氧化硅厚度约为 2 nm,尽可能的保证了 LSPR 传感的灵敏度(262nm/RIU)。

第四章以金纳米棒特有的 LSPR 性质研究了超薄二氧化硅包裹的复合金纳米棒制备过程中二氧化硅在金纳米棒表面的沉积过程,包括不同浓度反应物对于二氧化硅沉积动力学的影响、二氧化硅不同沉积阶段对于金纳米棒灵敏度的影响、LSPR 的光谱性质与沉积厚度的关系以及对于沉积过程的深度探究。

第五章设计并合成了一类新型的基于复合二氧化硅纳米颗粒的酸活化型荧光成像探针及治疗试剂，其由荧光染料分子和药物分子、pH 敏感连接键以及二氧化硅载体组成。以强荧光性的抗癌药物分子阿霉素（DOXO）为模型分子，验证了酸刺激-响应的药物释放的过程。并通过双荧光细胞成像实现了细胞内实时监控药物释放的过程。

最后，对本论文的研究内容进行了总结和展望。

关键词：金纳米棒，LSPR 传感；复合纳米材料；药物可控释放；

Abstract

The design and preparation of multifunctional nanomaterials and their application in biomedicine have become hot topics of research in the multi-interdisciplinary subject intersected by chemistry, materials and biological medicine. Recently, the applications of novel multifunctional nanomaterials, especially for noble metal nanoparticles and silica nanoparticles in biomedicine such as biological imaging and sensing, drug release, and medical diagnosis and therapy, have attracted much attention, which greatly promote the progress and development in relevant fields. Thus, in this thesis, we have designed and prepared several types of multifunctional LSPR nanoprobe, and controlled drug release system with various building blocks, such as silica, gold nanorods, organic dyes, biological molecules, and drug molecules.

The dissertation consists of five chapters summarized as the following.

Chapter 1: We introduced in general the basic theory of LSPR, the design and preparation of multifunctional nanomaterials especially for noble metal nanoparticles and silica nanoparticles, and their application in biological sensing and biomedicine. The research objectives, contents and significance of this dissertation were also proposed.

Chapter 2: We designed and prepared a LSPR sensing system of biothiols molecules based on gold nanorod. We synthesized PEG-Au NRs nanoparticles, the strong interaction between Au NRs and biothiols will cause the LSPR peak band shift of Au NRs. Furthermore, the loose structure of mPEG-SH around the Au NRs offers free sites, thereby allowing molecular biothiols to bind onto the surfaces of Au NRs. In addition, we research the effect of ligand exchange between biothiols and PEG-SH to the LSPR sensing.

Chapter 3: We designed and prepared an Au NRs@SiO₂ nanosensors were demonstrated to be a promising platform for suspension LSPR sensing. The ultra-thin SiO₂ shells enable Au NRs to maintain a sensitive response of the LSPR peak wavelength to the refractive index. In the meantime, these ultra-thin shells protect the

surface of Au NRs from the strong interaction and ligand exchange with thiol and amino molecules in the solution. In addition, the silica shells are feasible for chemical and biological conjugation. In the follow-up experiments we modified SiO₂ shell with PEG molecules and thrombin aptamer or antibody. Our work demonstrates this sensor could specifically recognize thrombin molecule and induce a red shift of LSPR peak band.

Chapter 4: We designed an effective and straightforward strategy for probing the growth process of ultrathin silica shell on the surface of Au NRs, a strategy which exploits the intrinsic LSPR of Au NRs as reporting signal. LSPR of metallic nanoparticles is highly sensitive to the refractive index of their surface environment. The strategy used here to probe silica growth relies on the relevancy of silica deposition on Au NRs with their surface refractive index and LSPR evolution. The spectral shift of LSPR quantitatively and accurately reflects the real-time change in the thickness of ultrathin silica shell (within 2 nm) on the surface of Au NRs.

Chapter 5: We designed and prepared a novel mesoporous-nonporous fluorescence silica nanoparticles-linked therapeutic agent bearing a pH-sensitive carboxylic hydrazone linkage. A model molecule, doxorubicin (DOX), was covalently conjugated on the surface of silica nanoparticles through the formation of a pH-sensitive linkage, carboxylic hydrazone bond. It was demonstrated that the release of DOX molecules from silica through the cleavage of carboxylic hydrazone bond can be effectively promoted at acid conditions. Fluorescence imaging assays also demonstrated that silica-linked DOX can be efficiently taken up for real-time detection.

Finally, the main research contents of this dissertation were summarized, and the prospection of the future work was discussed.

Key Words: LSPR sensing; composite nanoparticle; drug controlled release;

第一章 绪论

1.1 引言

纳米科学是 20 世纪末逐步发展起来的新兴交叉性前沿学科领域。纳米科学是研究纳米尺度范畴内原子、分子和其他类型物质性质、运动和变化的科学。所谓纳米材料，是指具有纳米量级的晶态或非晶态材料（一般尺寸范围在 1~100 nm），其中以纳米晶材料为研究的主要对象。1984 年德国科学家 Gleiter 等人^[1]首次用惰性气体凝聚法成功制备了铁纳米颗粒，在真空条件下制成纳米固体材料，并提出了纳米材料界面结构模型。1990 年 7 月，第一届国际纳米科学技术会议在美国巴尔的摩举办，标志着纳米科学技术已经成为 21 世纪科技产业革命的重要内容之一。

纳米材料是纳米科学的重要基础。纳米材料又称为纳米结构材料，是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围或由它们作为基本单元构成的材料^[1]。按空间维数纳米材料可以分为三类：（1）零维纳米材料，其三维空间尺度均为纳米尺度，如纳米量子点和原子团簇等^[2, 3]；（2）一维纳米材料，其三维空间尺度中有两维为纳米尺度，如纳米棒、纳米线、纳米带和纳米管等^[4, 5]；（3）二维纳米材料，其三维空间尺度中有一维处在纳米尺度，如纳米片、超薄膜、超晶格等；以零或者一维纳米材料为结构单元构成的块体称为三维超结构纳米材料^[6]。由于纳米材料尺寸小，可与电子的德布罗意波长、超导相干波长及激子波尔半径相比拟，电子被局限在一个体积十分微小的纳米空间，电子运输受限制，电子平均自由程很短，电子的局域性和相干性增强^[7]。尺寸下降使得纳米体系包含的原子数大大下降，宏观固定的准连续能带消逝，而表现出分立能级、量子尺寸效应显著，这使得纳米体系的光、热、电、磁等物理性质与常规材料不同，出现许多新奇的现象^[8]。此外，纳米材料还具有许多宏观物质不具备的特殊性质如小尺寸效应、表面效应和宏观量子隧道效应等^[9]。这些性质都使纳米材料在催化化学、光学、电子学以及磁学等领域都有广泛的应用，并成为化学、材料和生物医学等领域的研究热点。尤其是近年来纳米材料在生物成像、传感、药物释放、组织工程以及医学诊断等生物医学领域的应用和发展取得了许多重要成果。然而，一直困扰着研究者的一个主要问题是如何设计并控制纳米材料的物理、化学性质以及生物相

容性，以达到预期或理想的生物应用效果，如实时的传感、无标记生物传感、动态的荧光成像、靶向的药物释放以及可控的信号传导等。而通过化学的方法设计合成新型生物纳米材料成为解决这些难题最理想的途径。

金属纳米材料是一类由金属原子组成的纳米材料，这类金属纳米材料除了具有普通纳米材料所具有的一系列特殊性质外，还具有独特的光学现象：表面等离子共振（简称 SPR）^[10-12]，并基于此产生了表面荧光增强^[13]，表面散射增强^[14]，表面拉曼增强^[15]等现象。正是基于这种独特的性质，金属纳米材料在分子传感、生物传感、免疫分析、疾病诊断以及活体示踪等领域发挥着重要作用并引起了研究者的广泛关注。其中，金银等贵金属纳米材料由于具有稳定性高、生物毒性小等特性，已经成为应用最广的一类金属纳米材料。近年来，有关金银等贵金属纳米材料在生物医学中应用的报道层出不穷，例如：通过在银纳米颗粒表面修饰特异性抗体可以进行无标记局域表面等离子（LSPR）免疫分析；对金纳米颗粒表面特异性修饰后可以进行比色传感分析；利用金纳米颗粒对荧光的猝灭作用可以进行各类分子的荧光传感分析；结合银纳米颗粒的荧光增强效应进行超高灵敏度的分析检测；利用金纳米棒的光热效应进行药物释放和光热治疗；结合贵金属纳米颗粒的散射信号进行活体成像和活体示踪等等。与此同时，各类贵金属纳米颗粒由于组合和形貌的不同，在应用领域上也有所区别。比如，相比于金纳米颗粒，银纳米颗粒拥有更大的散射截面，因此银纳米颗粒在荧光增强和散射增强等方面有着更为广泛的应用；而金纳米颗粒的高稳定性又决定了其在药物释放和活体示踪等领域有着比银纳米颗粒更大的应用潜力。而不同形貌的金银纳米颗粒由于形貌差异在不同的领域也有着不尽相同的作用：如金纳米棒相比于金纳米颗粒拥有着更强的增强渗透及滞留效应（EPR）和更显著的光热效应，因此在药物释放和治疗领域中，金纳米棒的实际治疗效果比金纳米颗粒的实际治疗效果更好。因此，如何设计合成具有不同形貌、稳定性强以及生物相容性好的金属纳米材料，金属纳米探针的表面功能化修饰，通过纳米水平上的可控组装改善其相关特性并赋予其多重功能等，仍然是新型贵金属纳米材料研究的热点。

同金属纳米颗粒一样，多功能复合纳米材料也已经广泛应用于生物分析传感领域中。而且这类多功能纳米材料的应用不仅仅局限于生物传感、免疫分析、细胞成像和疾病诊断，其在多模式结合的生物成像、靶向递送、可控药物释放以及

多功能同步成像、诊断和治疗等方面也有着广泛地应用，并极大地扩展了纳米材料在生物医学领域中的应用范围。多功能纳米材料的设计与合成通常涉及到两个方面的内容，一是在纳米颗粒表面通过多功能化修饰以赋予其多功能性质：如金属纳米颗粒表面与抗体相结合应用于免疫分析、纳米颗粒与 DNA 分子结合应用于生物传感、纳米颗粒修饰荧光探针应用于生物成像等；二是不同功能纳米材料的可控组装或结合等过程：通过整合不同纳米材料的独特性质，合成具有多功能性质的复合纳米颗粒，将有利于大大提高纳米材料的应用范围和功能。近年来，许多新的多功能化修饰方法和组装途径被应用于多功能纳米材料的设计合成，其中以二氧化硅包裹的复合多功能纳米材料最为常见，二氧化硅的包裹，不仅可以提高原纳米材料的稳定性、水溶性和生物相容性，并且提高了原有材料功能化修饰的能力，从而极大地丰富了其种类和应用。二氧化硅包裹的多功能纳米材料可以实现多重功能的一体化、良好的生物相容性以及可控的生物稳定性，以能更好的应用于生物传感及医学领域，并服务于人类，因此也成为了当今的研究热点之一。

本章将主要综述具有表面等离子共振性质（SPR）传感性质（主要是局域表面等离子共振，LSPR）的贵金属纳米材料在 LSPR 传感中的应用、二氧化硅包裹的多功能复合纳米材料的合成方法以及主要基于 pH 敏感的药物控制释放。通过介绍贵金属和二氧化硅纳米材料的分类、设计合成以及生物应用等方面进行研究进展，讨论部分新型纳米材料的发展现状、未来发展趋势以及所面临的挑战。最后，将提出本论文工作的研究思路和意义，并简单概括本论文的主要研究内容。

1.2 LSPR 纳米传感材料概述

金属纳米材料具有纳米材料所特有的小尺寸效应、表面效应及量子效应，但是相比于其他组成的纳米材料，金属纳米材料普遍存在着局域表面等离子共振效应（简称 LSPR）^[16,17]，基于这种 LSPR 效应所构建的生物传感分析已经受到研究者的广泛关注^[18-20]。值得注意的是，虽然所有的金属纳米材料都具有 LSPR 性质，但是由于金、银等贵金属纳米颗粒具有高稳定性，表面的金属原子不容易被氧化，因此，在实际的 LSPR 的生物传感分析应用体系中，研究者普遍采用金银等贵金属纳米颗粒^[21]。本节将主要介绍 LSPR 的基本原理及金银纳米材料在 LSPR 传感中的应用。

1.2.1 LSPR 的基本原理

金属纳米颗粒具有高度活跃的外层电子，当光（电磁）波辐射到粒径远小于其激发波长的金属纳米颗粒时，产生的表面等离子体波被限域在纳米结构的附近，当入射光频率与自由电子集体振荡频率相当时则产生共振，也就是等离子体共振。如图 1.1 所示，可以将金属纳米颗粒看成是由带正电的核和带负电的自由电子组成的，当金属纳米颗粒表面受到入射光电磁波的作用时，核向正电区域移动，而电子云向负电区域移动，导致局部区域电子分布不均匀。而当电子云远离核时，电子与核之间会产生库仑引力，使电子向相反的方向移动，从而导致电子在入射光电磁波的作用下产生纵向震荡。当电子的振荡频率与电磁波的振荡频率相等时，就会产生等离子体共振（SPR），这类 SPR 是通过等离子体基元（SPPs）沿着金属平面向外传播，如果平面无穷大，这类传播就会一直进行下去；但是，当 SPPs 传播到纳米颗粒边界时，由于平面的弯曲和断裂，等离子体共振的传播就无法进行下去，另外，等离子体共振的强度沿垂直于金属平面方向呈现指数衰减的趋势，因此等离子体共振在周围环境介质中只能传播很短的距离。总体上讲，对于金属纳米颗粒而言，当 SPPs 传播至金属纳米颗粒边缘时，由于颗粒的限制，SPPs 的传播就会停止，这时 SPPs 的传播就如同被局域在纳米颗粒的表面，因此将金属纳米颗粒表面的 SPR 称之为局域表面等离子体共振即 LSPR。LSPR 现象在数百年之前就被用于为玻璃着色，然而，直到 1857 年 Faraday 合成了金纳米颗粒水溶液以后才得到系统的研究^[22]。随后，Mie 利用麦克斯韦方程解释了球形纳米颗粒的表面等离子共振现象。在 1951 年，Turkevich 利用柠檬酸钠还原氯金酸水溶液的方法合成了金纳米颗粒，使 LSPR 的发展进入到新的时期^[23]。近年来，在这些研究的基础上，贵金属纳米颗粒 LSPR 性质的研究受到了广泛的关注。随着强大的表征手段和更完善的贵金属纳米颗粒合成方法的提出，人们已经能够控制合成特定形态、尺寸以及特性的金银纳米颗粒，进而推动了 LSPR 在生物传感器、化学传感器以及光电子器件等领域的应用。贵金属纳米颗粒的 LSPR 主要是以散射峰的形式在紫外-可见-近红外波段体现，因此，本论文的研究主要针对的是贵金属纳米颗粒的 LSPR 的基本性质，也就是基于贵金属纳米颗粒的 LSPR 的峰位置的变化所构建的一系列传感分析模型。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库