

阳极氧化铝纳米结构协同当归多糖对乳腺癌细胞生长的影响规律研究

张智颖, 梁瑞清, 陈俊霖, 梅晁源, 李娟, 孙润广

(陕西师范大学 物理学与信息技术学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 系统的研究了不同周期的纳米凹坑和纳米柱孔氧化铝膜表面直接修饰当归多糖 (ASP) 或通过 γ -氨丙基三乙氧基硅烷 (KH550) 共价连接修饰 ASP 后, 乳腺癌细胞 MDA-MB-231 在其表面生长的细胞形态和活性规律。结果发现, 当归多糖直接修饰纳米凹坑和纳米柱孔结构能够有效抑制乳腺癌细胞的活性, 对细胞形态影响较小。但纳米凹坑结构的细胞活性抑制效果优于纳米柱孔结构, 纳米凹坑在 300 nm 周期时具有最优的细胞活性抑制效果, 抑制率为 27.7%。用 KH550 共价修饰 ASP 的纳米凹坑和纳米柱孔结构对细胞活性的抑制效果要优于直接修饰 ASP 时的抑制效果, 细胞形态也发生了明显的变化, 胞体周围生成大量板状伪足。纳米凹坑结构上的细胞活性抑制效果要优于纳米柱孔结构, 纳米凹坑在 300 nm 周期时抑制效果最佳, 抑制率为 28.2%。该结果对于药物的设计以及输运具有一定的指导作用。

关键词: 阳极氧化铝; 当归多糖; 细胞形态; 细胞活性; 抗肿瘤

中图分类号: TB32

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2023)11-3947-07

在常规药物治疗中, 药物往往存在水溶性差、循环时间短、缺乏选择性、毒副作用和不良的药代动力学/药效学等问题。例如, 当归多糖 (ASP) 是从当归鲜根中分离纯化得到的主要活性成分, 具有明显的补血、促进免疫、抗肿瘤、抗辐射损伤等药理活性^[1-5], 在食品、医疗、保健、动物生产等领域得到了广泛的应用, 是当归药效成分研究的热点。传统的当归多糖递送方式, 主要包括注射和口服, 使得多糖易在体内被快速代谢, 利用效率低, 且靶向性不明显。为了解决以上问题, 在过去的 20 年里, 大量研究用来寻找新的和更有效的药物运输系统^[6-7]。局部给药被认为是一种有希望解决以上问题的方式。目前, 许多材料如陶瓷、丙烯酸聚合物、胶原蛋白、透明质酸和羟基磷灰石等已被探索作为药物递送载体实现局部给药^[8-13]。尽管这些材料已被用于临床, 但由于其重复性差和孔隙度变化大, 往往会导致不良的初始药物爆发释放和不可控释放。为了克服这些现存的问题, 利用结构参数可控的有序纳米结构作为新型局部给药系统, 实现药物的可控释放对开发新型局部给药系统具有重要的指导作用。

阳极氧化铝因其制备成本低、孔道结构可控, 比表面积大、负载能力强、耐化学腐蚀等优点, 是研究纳米结构参数对细胞行为影响的理想模型材料^[14-20], 而且其

表面易于修饰各种化学功能基团, 可作为生物活性物质的优良载体, 赋予纳米结构本身特殊的生物学功能^[21-25]。ASP 作为植物活性多糖, 主要由葡萄糖醛酸、阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖组成^[5], 表面含有大量的活性基团, 易于修饰在阳极氧化铝表面, 从而有可能缓慢可控释放并作用于细胞。

本实验通过阳极氧化铝膜直接修饰或共价修饰当归多糖, 探究不同纳米结构参数协同 ASP 对乳腺癌细胞生长行为, 尤其是细胞形态和细胞活性的影响规律。

1 实验

1.1 试验材料

铝箔 (纯度 99.999%, 0.2 mm 厚) 购自北京翠博林有色金属有限公司。DMEM 高糖培养基、EDTA (0.25%)、青霉素和链霉素购自赛默飞世尔科技公司。小牛血清购自 Biological Industries。 γ -氨丙基三乙氧基硅烷 (KH550) 购自中国 Sigma-Aldrich®。MDA-MB-231 细胞购自中国科学院细胞库。当归多糖 (ASP, 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 纳米结构制备

高纯度铝箔经过无水乙醇超声 3 min 后在抛光液 (无水乙醇:高氯酸=4:1) 中以铝片为阳极, 铂片为阴极,

收稿日期: 2023-06-17

基金项目: 国家自然科学基金 (21965030); 陕西省重点研发计划 (2023-YBGY-477)

作者简介: 张智颖, 女, 1991 年生, 博士生, 陕西师范大学物理学与信息技术学院, 陕西 西安 710119, E-mail: zhiyingz@snnu.edu.cn

20 V, 0 °C 下电化学抛光 11 min, 获得表面光滑的铝片。抛光后的铝片分别在 0.3 mol/L 草酸水溶液中, 40 V, 16 °C, 氧化 6 h; 在 0.3 mol/L 草酸和 0.012 mol/L 硫酸混合水溶液中, 35 V 预氧化 8 min, 然后以 0.5 V/s 升压至 110 V, -4 °C 下, 继续氧化 70 min; 在 0.3 mol/L 草酸和 0.001 mol/L 硫酸混合水溶液中, 40 V 预氧化 8 min, 然后以 0.5 V/s 升压至 140 V, -5 °C 下, 继续氧化 70 min。氧化后的纳米结构铝片浸入剥蚀液中, 75 °C 下浸泡 3 h, 以剥除掉表面氧化层, 分别得到周期为 100、200 和 300 nm 的纳米凹坑结构, 分别命名为 D₁₀₀, D₂₀₀, D₃₀₀。将 D₁₀₀, D₂₀₀ 和 D₃₀₀ 分别继续进行第 2 步阳极氧化: D₁₀₀ 在 0.3 mol/L 草酸中, 40 V, 10 °C 下氧化反应 307 s; D₂₀₀ 在 0.015 mol/L 草酸中, 110 V, -4 °C 下氧化反应 165 s; D₃₀₀ 在 0.015 mol/L 草酸中, 150 V, 0 °C 下氧化反应 160 s, 制备得到 100、200 和 300 nm 周期的纳米柱孔阳极氧化铝, 分别命名为 N₁₀₀, N₂₀₀, N₃₀₀。

1.3 纳米柱孔结构孔隙率

制备的纳米结构样品表面经过溅射金后使用场发射扫描电子显微镜进行观测, 加速电压选择 15 kV。将得到的纳米柱孔结构电镜照片导入 ImageJ 软件计算孔隙率 (孔隙率=柱孔孔隙面积/整体结构面积×100%)。每组试验样品至少重复 3 次且随机取样。

1.4 当归多糖 ASP 修饰

将上述纳米结构氧化铝膜经过乙醇超声 3 min 去除表面油脂杂质后, 在 30% H₂O₂ 中煮沸 30 min 进行表面羟基化处理, 以便于多糖修饰。

(1) ASP 直接修饰: 将羟基化处理的样品膜浸入 2 mg/mL 的当归多糖溶液中, 55 °C 浸泡过夜, 取出后 55 °C 烘干 1 h, 蒸馏水冲掉表面多余的多糖。

(2) ASP 共价连接修饰: 如图 1 所示, 羟基化处理的样品膜放入含有 2% γ -氨丙基三乙氧基硅烷 (KH550) 的丙酮溶液中, 室温下浸泡 2 h 后取出, 80 °C 烘干, 完成表面硅烷化处理。再分别经过丙酮-乙醇-蒸馏水冲洗, 浸入 2 mg/mL 的当归多糖溶液中, 55 °C 浸泡过夜, 取出后 55 °C 烘干 1 h, 蒸馏水冲掉表面多余的多糖。

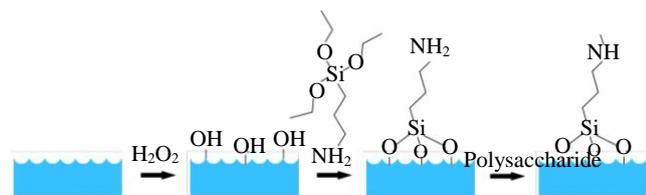


图 1 经过 KH550 连接 ASP 共价修饰纳米结构流程示意图

Fig.1 Schematic diagram of the process of nanostructures covalently modified by ASP via KH550

所有样品在接种细胞前的处理操作均在无菌环境下进行。将样品浸入 75% 乙醇溶液中后转移到超净工作台, 浸泡 3 min 后取出放置于无菌培养皿中, 在超净工作台紫外灯照射下晾干, 照射 20 min 后移入 12 孔板待用 (无菌操作)。细胞按照 1×10^4 /mL 的密度接种到样品膜表面, 放入细胞培养箱中, 37 °C, 5% CO₂ 条件下培养。

1.5 细胞形态固定及观察

按照每孔 2 mL 将 1×10^4 /mL 的细胞接种到样品表面, 置于细胞培养箱中 37 °C 培养 48 h。取出粘附生长有细胞的纳米基底, PBS 冲洗表面, 并用 2% 戊二醛溶液浸泡 2 h, 固定样品表面的细胞; 乙醇梯度法 (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 100%) 对粘附细胞进行梯度脱水处理, 每梯度 15 min。二氧化碳临界点干燥后在样品表面溅射金, 使用场发射扫描电子显微镜观察样品表面细胞形态, 电压选择 10 kV。每组试验样品至少重复 3 次且随机取样。

1.6 细胞活性检测

按照每孔 2 mL 将 1×10^4 个/mL 的细胞接种到样品表面, 置于细胞培养箱中 37 °C 培养 144 h, 每 48 h 更换一次培养液。利用 MTT 法, 分别在 48, 96 和 144 h 进行细胞活性检测。12 孔板按照每孔加入 5 μ g/mL 的 MTT 溶液 200 μ L 后继续培养 4 h, 吸取多余培养液后加入 2 mL DMSO 震荡溶解 15 min, 待溶液充分混合均匀, 按照每孔 200 μ L 移入到 96 孔板中, 酶标仪检测吸光度值, 波长选择单波 490 nm, 终点法进行测量计算, 同时设置调零孔 (培养基、MTT、DMSO), 每组样品至少重复 3 次。以在未修饰 100 nm 周期凹坑结构上培养 144 h 时的细胞活性作为参照, 设为 100%, 数据导入 Origin 软件中, 绘制活性变化图并计算有效平均差。

1.7 纳米结构修饰 ASP 的傅里叶红外光谱检测

在干燥的环境中, 将 ATR 附件置于光谱仪 (Thermo Scientific Nicolet iS20) 的光路中, 扫描空气背景, 然后分别将直接修饰 ASP 和共价修饰 ASP 的阳极氧化铝膜表面紧贴于 ATR 附件的晶体面上, 然后采集样品的红外光谱, 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描次数为 32 次, 测试波数范围为 400~4000 cm⁻¹。

2 结果与讨论

2.1 阳极氧化铝修饰 ASP 的表征

图 2 为阳极氧化铝表面直接修饰 ASP 和共价修饰 ASP 的红外谱图。从图中可以看出, 在 3300 cm⁻¹ 左右的宽峰为 O-H 伸缩振动吸收峰; 2900~3000 cm⁻¹ 范围的峰为 C-H 的伸缩振动吸收峰; 1700 cm⁻¹ 处的峰为 C=O 的特征吸收峰; 1400 cm⁻¹ 左右出现的吸收峰为 C-H 的变角

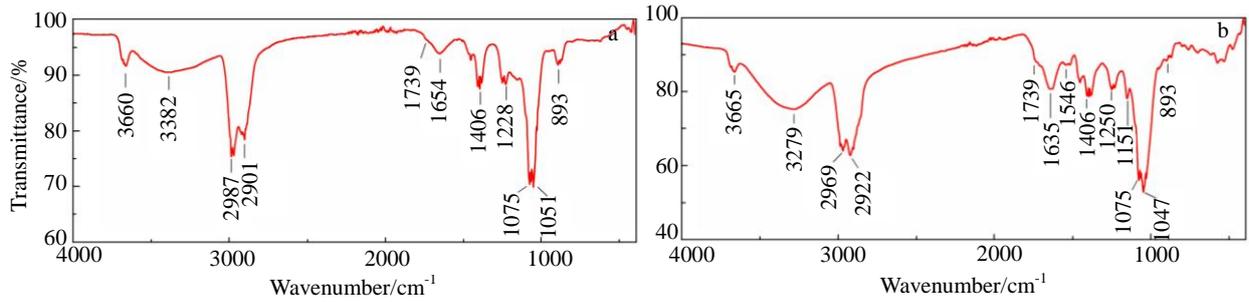


图 2 阳极氧化铝直接修饰 ASP 以及共价修饰 ASP 的红外光谱

Fig.2 Infrared spectra of anodic aluminum oxide directly modified by ASP (a) and covalently modified by ASP (b)

振动峰; 1000~1200 cm^{-1} 范围出现 3 个峰表明吡喃糖苷的存在; 893 cm^{-1} 处的峰表示糖苷键的存在^[23]。从以上结果可以看出, 2 个样品均修饰有多糖的成分。在图 2b 中 1546 cm^{-1} 处的峰表示 N-H 弯曲振动吸收峰, 在图 2a 中并未出现, 说明 KH550 将多糖分子连接修饰在阳极氧化铝表面。

2.2 纳米结构协同 ASP 对细胞形态的影响

2.2.1 纳米凹坑结构协同 ASP 对细胞形态的影响

图 3 为细胞在不同处理方法的纳米凹坑结构表面培养 48 h 后的 SEM 照片。未修饰的 100、200 和 300 nm 周期凹坑结构分别标记为 D_{100} 、 D_{200} 和 D_{300} , ASP 直接

修饰的 100、200 和 300 nm 周期凹坑结构分别标记为 $P-D_{100}$ 、 $P-D_{200}$ 和 $P-D_{300}$, 通过 KH550 连接 ASP 共价修饰的 100、200 和 300 nm 周期凹坑结构分别标记为 $P-K-D_{100}$ 、 $P-K-D_{200}$ 和 $P-K-D_{300}$ 。从图 3a 中可以清楚地看到, 未修饰多糖时, 在不同周期纳米凹坑结构表面的细胞极性和细胞伪足发生了明显的变化。细胞在 D_{100} 上生长时, 延伸出丝状伪足并伴有板状伪足存在, 而在 D_{300} 上时仅有较粗的丝状伪足存在。另一方面, D_{100} 和 D_{200} 上的细胞极性没有明显的变化, 细胞呈现双极性。但在 D_{300} 表面, 细胞的极性发生了明显的变化, 成为多极细胞。

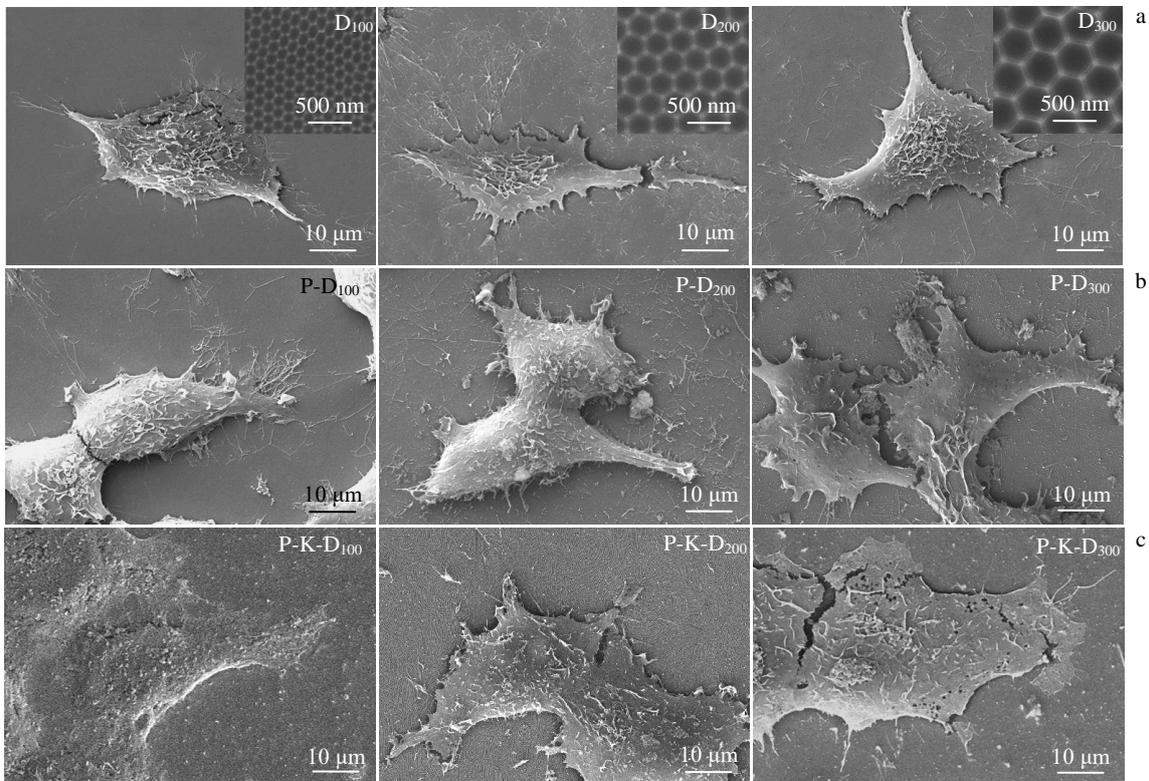


图 3 细胞在未修饰、直接修饰 ASP 和共价修饰 ASP 的纳米凹坑结构表面培养 48 h 后 SEM 照片 (右上角为不同周期纳米凹坑结构正面图)

Fig.3 SEM images of cells cultured on nanodent structures which were unmodified (a), directly modified by ASP (b), and covalently modified by ASP (c) for 48 h (the top-right is the front view of nanodent structures with different periods)

经过 ASP 直接修饰后, 纳米凹坑协同作用下的细胞伪足与极性的变化 (图 3b) 与在未修饰 (图 3a) 时的变化趋势几乎一致。然而, 经过 KH550 连接 ASP 共价修饰纳米凹坑结构之后, 细胞的生长形态与其他两组相比变化显著。在共价修饰后的纳米凹坑结构表面, 尤其是在 P-K-D₁₀₀ 和 P-K-D₃₀₀ 上, 细胞生长伴有大量板状伪足存在, 且细胞胞体较为扁平。另一方面, 在不同周期纳米凹坑结构上生长的细胞没有明显的极性的改变, 均表现为两性性 (图 3c)。

2.2.2 纳米柱孔结构协同 ASP 对细胞形态的影响

图 4 为细胞在不同处理方法的纳米柱孔结构表面培养 48 h 后的 SEM 照片。未修饰的 100、200 和 300 nm 周期柱孔结构分别标记为 N₁₀₀、N₂₀₀ 和 N₃₀₀, ASP 直接修饰的 100、200 和 300 nm 周期柱孔结构分别标记为 P-N₁₀₀、P-N₂₀₀ 和 P-N₃₀₀, 通过 KH550 连接 ASP 共价修饰的 100、200 和 300 nm 周期柱孔结构分别标记为 P-K-N₁₀₀、P-K-N₂₀₀ 和 P-K-N₃₀₀。从图 4a 中可以清楚的看到, 未修饰多糖时, 在纳米柱孔结构表面生长的细胞极性和细胞伪足发生了明显的变化。在 N₁₀₀ 上生长的细胞板状伪足和丝状伪足共存, 而在 N₃₀₀ 上生长的细胞具有较粗的丝状伪足。另一方面, 在 N₁₀₀ 和 N₂₀₀ 上生长时的细胞极性没

有明显的变化, 呈现双极性, 而在 N₃₀₀ 表面细胞极性发生明显改变, 为多极性细胞。

经过 ASP 直接修饰后, 纳米柱孔表面生长的细胞形态与未修饰时发生了明显改变 (图 4b)。直接修饰 ASP 后, 在 P-N₁₀₀ 表面生长的细胞伴有大量板状伪足和丝状伪足, 在 P-N₂₀₀ 和 P-N₃₀₀ 上生长的细胞胞体周围也存在有少量板状伪足。另一方面, 细胞极性在不同周期柱孔以及 ASP 协同影响下均呈现两性性, 并没有随着周期的改变而发生明显的变化。经过 KH550 共价连接 ASP 修饰后, 细胞在不同周期纳米结构上生长均有大量板状伪足存在。另一方面, 在 P-K-N₁₀₀ 和 P-K-N₂₀₀ 上生长的细胞极性没有发生明显变化, 呈现两性性, 而在 P-K-N₃₀₀ 上生长的细胞呈现多极性 (图 4c)。

2.3 纳米结构协同 ASP 对细胞活性的影响

2.3.1 纳米凹坑协同 ASP 对细胞活性的影响

图 5 为不同处理方式下纳米凹坑结构上培养 48~144 h 的乳腺癌细胞活性, 以在未修饰的 100 nm 周期凹坑结构上培养 144 h 的细胞活性作为参照, 设定为 100%。从图 5a 中可以看出, 未修饰 ASP 时, 随着培养时间的延长以及凹坑结构周期的增加, 细胞活性逐渐增加。细胞在 D₁₀₀、D₂₀₀ 和 D₃₀₀ 上培养 48 h 时的活性分别

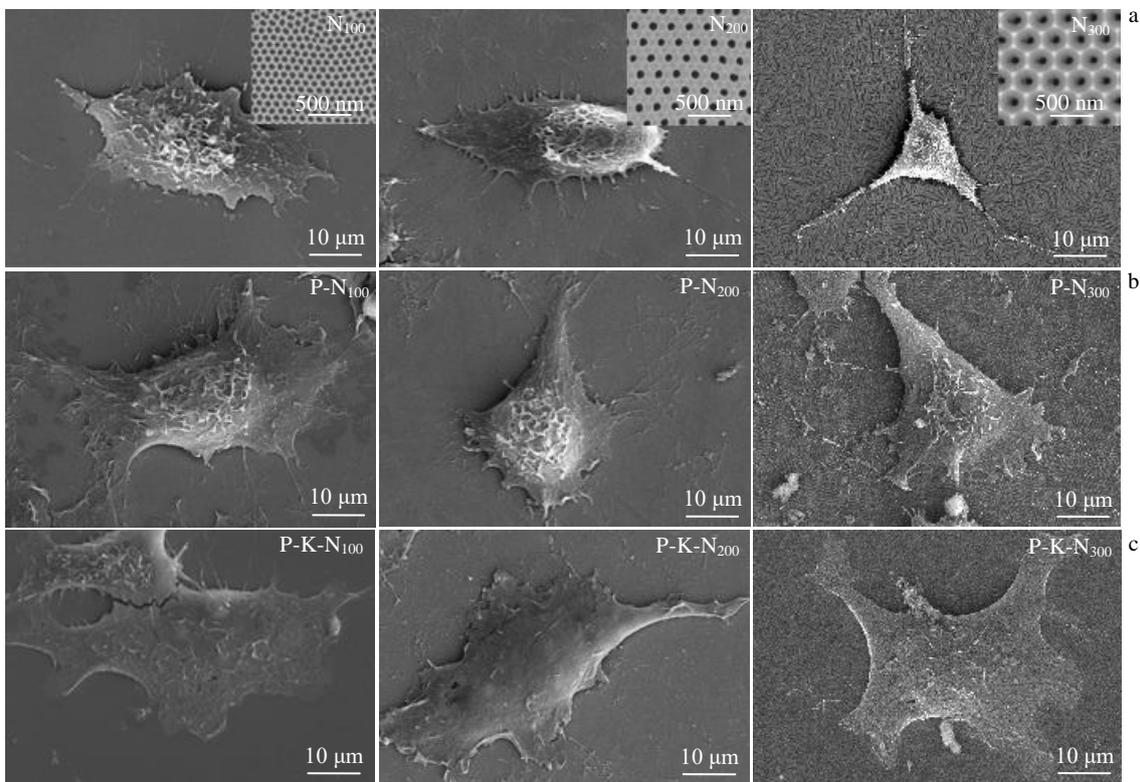


图 4 细胞在未修饰纳米柱孔结构、直接修饰 ASP 和共价修饰 ASP 的纳米柱孔结构表面培养 48 h 后 SEM 照片 (右上角为纳米柱孔结构正面图)

Fig.4 SEM images of cells cultured on nanopore structures which were unmodified (a), directly modified by ASP (b), and covalently modified by ASP (c) for 48 h (top-right is the front view of nanopore structures with different periods)

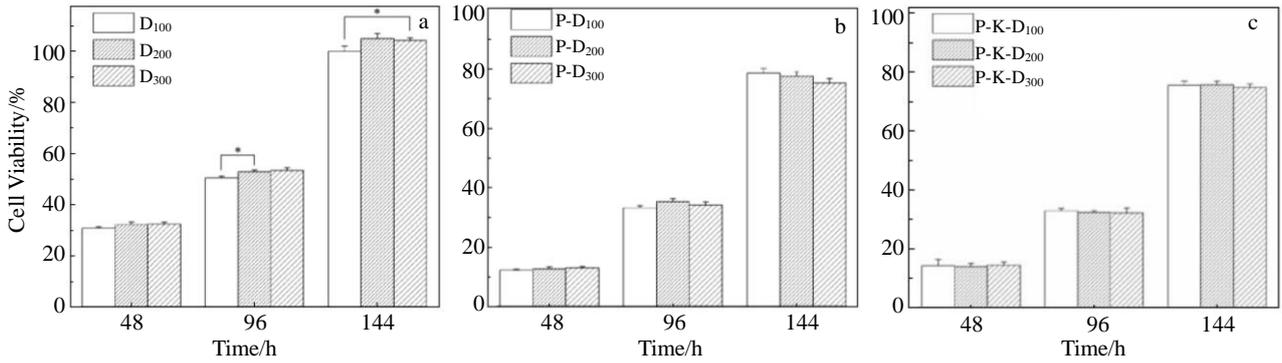


图 5 在未修饰、直接修饰 ASP 以及共价修饰 ASP 的纳米凹坑结构表面培养 48~144 h 的细胞活性图 (以在未修饰的 100 nm 周期凹坑上培养 144 h 时的细胞活性作为参照, 设为 100%, * $p < 0.05$)

Fig.5 Viability of cells cultured on nanodent structures which were unmodified (a), directly modified (b), and covalently modified by ASP (c) for 48-144 h (cell viability on unmodified 100 nm-period nanodent structure for 144 h was set to 100%, * $p < 0.05$)

为 30.9%, 32.3%, 32.5%。经过长时间培养 (144 h) 后, 在 D_{200} 和 D_{300} 表面活性达到 104.9% 和 104.1%。

经过 ASP 直接修饰后, 纳米凹坑膜表面细胞活性 (图 5b) 相比较于未修饰表面整体降低明显。48 h 培养后, 在 $P-D_{100}$ 、 $P-D_{200}$ 和 $P-D_{300}$ 上生长的细胞活性降低至 12.3%, 12.8% 和 13.1%。经过长时间的培养 (144 h) 之后, 细胞活性随着周期的增加而降低。 $P-D_{100}$ 、 $P-D_{200}$ 和 $P-D_{300}$ 上的细胞活性分别降低至 78.6%, 77.5% 和 75.2%。300 nm 周期纳米凹坑上细胞活性抑制效果最佳, 抑制率为 27.7%。结果表明, ASP 协同纳米凹坑结构能够有效地降低乳腺癌细胞的生长活性, 且与未修饰 ASP 时细胞活性随凹坑结构周期变化而改变的趋势相反。

在共价修饰 ASP 后的纳米凹坑结构表面上生长的细胞, 其活性整体下降明显 (图 5c)。经过长时间培养 (144 h) 后, 相较于未修饰纳米凹坑结构表面, $P-K-D_{100}$ 、 $P-K-D_{200}$ 和 $P-K-D_{300}$ 表面细胞活性分别降低至 75.5%,

75.6%, 74.7%, 300 nm 周期纳米凹坑上细胞活性抑制效果最佳, 抑制率为 28.2%。结果表明, 随着周期的增加, 对乳腺癌细胞活性抑制效果略有增加, 但不同周期的凹坑之间抑制效果差异不大, 这可能是由于凹坑结构深度相比于细胞大小可忽略不计, 经过大分子多糖的修饰以及长时间细胞培养过程中蛋白质在结构表面的堆积, 削弱了纳米结构的差异造成的。

2.3.2 纳米柱孔协同 ASP 对细胞活性的影响

图 6 为不同处理方式下纳米柱孔结构上培养 48~144 h 的乳腺癌细胞活性, 以在未修饰 ASP 的 100 nm 周期凹坑上培养 144 h 时的细胞活性作为参照, 设为 100%。从图 6a 中可以看出, 随着培养时间的延长, 整体细胞活性逐渐增加。细胞在 P_{100} 、 P_{200} 和 P_{300} 上培养 48 h 时的活性分别为 30.6%, 31.0% 和 36.3%。144 h 时的细胞活性增长到 90.6%, 87.2% 和 82.8%。长时间的培养条件下, 在未修饰多糖的纳米柱孔结构表面, 细胞活

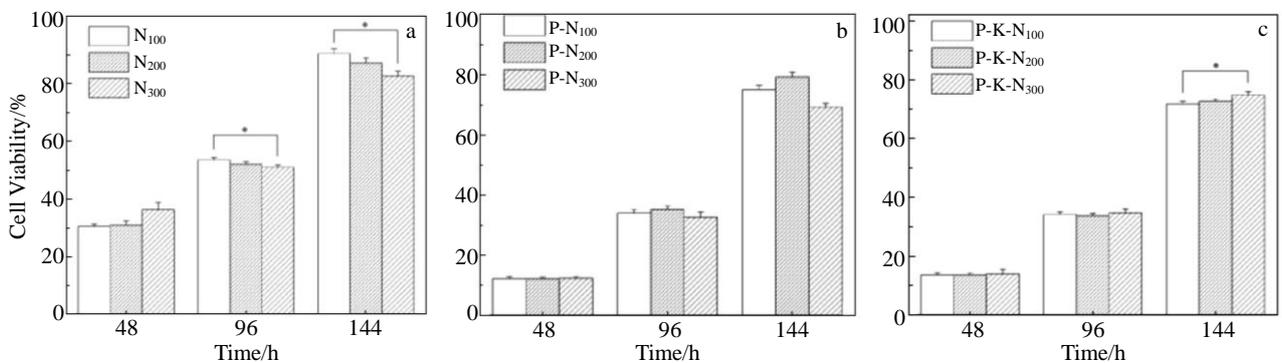


图 6 在未修饰、直接修饰 ASP 以及共价修饰 ASP 的纳米柱孔结构表面培养 48~144 h 的细胞活性 (以在未修饰的 100 nm 周期凹坑上培养 144 h 时的细胞活性作为参照, 设为 100%, * $p < 0.05$)

Fig.6 Viability of cells cultured on nanopore structures which were unmodified (a), directly modified (b), and covalently modified by ASP (c) for 48-144 h (the cell viability on unmodified 100 nm-period nanodent structure for 144 h was set to 100%, * $p < 0.05$)

性随着纳米结构周期的增加而降低。在之前的研究中发现,除了周期的改变会对细胞活性产生影响,纳米柱孔的孔隙率同样会影响细胞生长^[26]。通过图 4a 中纳米柱孔结构 SEM 照片统计可知, N₁₀₀, N₂₀₀ 和 N₃₀₀ 的孔隙率分别为 32.65%, 8.16% 和 6.45%。细胞活性随着孔隙率的降低而降低。

经过 ASP 直接修饰后,纳米柱孔结构表面细胞活性相比较于未修饰时整体降低。48 h 时,在 P-N₁₀₀、P-N₂₀₀ 和 P-N₃₀₀ 上的细胞活性降为 12.3%, 12.3% 和 12.4%, 长时间培养(144 h)后,在拥有最小孔隙率的 300 nm 周期柱孔结构上细胞活性最低,为 69.5% (图 6b), 相比于未修饰时细胞活性抑制率为 16.1%。抑制效果要低于直接修饰 ASP 的纳米凹坑结构。这可能是由于直接修饰 ASP 的方法使得大分子多糖无法完全进入纳米柱孔内部充分修饰孔道,而在纳米凹坑结构上,凹坑高度相比于细胞的大小可忽略不计,细胞胞体可以充分的接触到纳米凹坑结构表面以及修饰在表面的 ASP。

共价修饰 ASP 后,在 P-K-N₁₀₀、P-K-N₂₀₀ 和 P-K-N₃₀₀ 上经过长时间培养的细胞,活性低至 71.7%, 72.7% 和 74.7% (图 6c), 相比于未修饰时细胞活性降低,但不同周期纳米柱孔结构间差异不明显,这与纳米凹坑结构结果相似。共价修饰 ASP 后的纳米柱孔在 100 nm 周期时活性抑制效果最佳,抑制率为 20.9%。相较于共价修饰 ASP 后的纳米凹坑结构,经过长时间培养(144 h)后,纳米柱孔结构上的细胞活性更低。这可能是经过 KH550 的连接,能够更加牢固地将多糖分子修饰在纳米柱孔内部及其表面,从而在长时间的培养过程中更加有效的抑制细胞活性。

3 结 论

1) 纳米凹坑和纳米柱孔结构协同当归多糖能够有效抑制乳腺癌细胞的活性,在纳米凹坑结构上的细胞活性抑制效果优于纳米柱孔结构。

2) 纳米凹坑在 300 nm 周期时具有最优的细胞活性抑制效果,经过直接修饰多糖后的抑制率为 27.7%;用 KH550 共价修饰 ASP 的抑制率为 28.2%。这可能是由于纳米凹坑结构的深度相比于细胞的大小可以忽略不计,细胞可以完全接触到纳米凹坑结构底部并和修饰在表面的 ASP 相互作用。但经过 KH550 共价修饰后,在纳米柱孔结构表面长时间培养后的细胞活性比纳米凹坑结构的更低。在 100 nm 周期柱孔结构上细胞活性只有 71.7%。这可能由于 KH550 在多糖和纳米结构之间的共价连接,使得多糖可以牢牢的修饰在纳米柱孔孔道内部及其表面,从而在长时间的培养过程中依旧可以抑制细胞活性。另一方面,纳米凹坑和纳米柱孔结构协同当归

多糖也会对细胞形态产生一定的影响。直接修饰 ASP 的纳米柱孔结构上生长的细胞呈现两极性,不再随着周期的改变而改变,但经过共价修饰 ASP 后,在纳米凹坑和纳米柱孔结构上生长的细胞胞体周围均生成大量板状伪足。

3) 本实验以阳极氧化铝作为结构精准可控且化学稳定的良好给药改性材料,为以后开发出更能抑制肿瘤细胞生长的组织工程给药系统提供了依据。

参考文献 References

- [1] Nai J J, Zhang C L, Shao H *et al. International Journal of Biological Macromolecules*[J], 2021, 183: 2337
- [2] Yang T H, Jia M, Meng J *et al. International Journal of Biological Macromolecules*[J], 2006, 39(4-5): 179
- [3] Zhuang C, Xu N W, Gao G M *et al. International Journal of Biological Macromolecules*[J], 2016, 87: 322
- [4] Wang J M, Ge B L, Li Z H *et al. Carbohydrate Polymers*[J], 2016, 140: 6
- [5] Zhang Y, Zhou T, Wang H J *et al. Carbohydrate Polymer*[J], 2016, 147: 401
- [6] Mainardes R M, Silva L P. *Current Drug Targets*[J], 2004, 5(5): 449
- [7] Kim G O, Lee H Y, Ma E Y *et al. Bulletin of the Korean Chemical Society*[J], 2017, 38(12): 1447
- [8] Porter J R, Ruckh T T, Popat K C. *Biotechnology Progress*[J], 2009, 25(6): 1539
- [9] Oonishi H, Akiyama H, Takemoto M *et al. Acta Orthopaedica*[J], 2011, 82(5): 553
- [10] Arca T, Proffitt J, Genever P. *Bio-Medical Materials and Engineering*[J], 2012, 22(5): 261
- [11] Morra M, Cassinelli C, Cascardo G *et al. Journal of Orthopaedic Research*[J], 2009, 27(5): 657
- [12] Luo E, Hu J, Bao C Y *et al. Acta Biomaterialia*[J], 2012, 8(2): 734
- [13] Kong Wenquan(孔文泉), Wei Kai(魏凯), Zhao Yao(赵耀) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2023, 52(7): 2623
- [14] Poinem G E J, Le X T, O'Dea M *et al. Biomed Research International*[J], 2014, 3: 238 762
- [15] Mussano F, Genova T, Francesca G S *et al. International Journal of Molecular Sciences*[J], 2018, 19(2): 528
- [16] Che X, Boldrey J, Zhong X *et al. ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2018, 10(34): 28 269
- [17] Tian Zhenghao(田正豪), Liu Haitao(刘海韬), Jiang Ru(姜如) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与

- 工程)[J], 2022, 51(10): 3910
- [18] Ma Y, Wen Y, Li J *et al. Scientific Reports*[J], 2016, 6: 39 165
- [19] Lim J, Choi A, Kim H W *et al. ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2018, 10(17): 14 331
- [20] Simovic S, Losic D, Vasilev K. *Chemical Communications*[J], 2010, 46(8): 1317
- [21] Aw M S, Simovic S, Addai-Mensah J *et al. Journal of Materials Chemistry*[J], 2011, 20: 7082
- [22] Gao Z Z, Zhang C, Tian W J *et al. International Journal of Biological Macromolecules*[J], 2017, 97: 46
- [23] Kong X F, Hu Y L, Rui R *et al. International Immunopharmacology*[J], 2004, 4(7): 975
- [24] Zhang W F, Yan Y, Li X *et al. Phytomedicine*[J], 2017, 33: 21
- [25] Shimada K, Kamps J A A M, Regts J *et al. Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*[J], 1997, 1326(2): 329
- [26] Zhang Z Y, Liu T, Li J *et al. Frontiers of Materials Science*[J], 2022, 16(4): 220 622
- [22] Gao Z Z, Zhang C, Tian W J *et al. International Journal of*

Effect of Anodic Aluminum Oxide Modified by *Angelica Sinensis* Polysaccharide on the Growth of Breast Cancer Cells

Zhang Zhiying, Liang Ruiqing, Chen Junlin, Mei Chaoyuan, Li Juan, Sun Runguang

(School of the Physics and Information Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: The surface of nanodent and nanopore structured alumina membranes with different periods were directly modified by *Angelica sinensis* polysaccharide (ASP) or covalently modified by ASP via γ -aminopropyl triethoxysilane (KH550). After that, the morphology and cell viability of breast cancer cells MDA-MB-231 grown on the modified nanostructured surfaces were studied. It is found that nanodent and nanopore structure directly modified by ASP can effectively inhibit the viability of breast cancer cells, and have little effect on cell morphology. However, the inhibitory effect of nanodent structure on cell viability is superior to that of nanopore structure. Nanodent structure with period of 300 nm have the best inhibitory effect on cell viability, and the inhibitory rate is 27.7%. The nanodent and nanopore structures covalently modified by ASP via KH550 have a better inhibitory effect on cell viability than that directly modified ASP, and the cell morphology change obviously. A large number of lamellipodia are generated around the cell body. However, the inhibition effect of the nanodent structure on cell viability is better than that of the nanopore structure. Nanodent structure with period of 300 nm have the best inhibitory effect, and the inhibition rate is 28.2%.

Key words: *Angelica sinensis* polysaccharide; anodic aluminum oxide; cell morphology; cell viability; anti-tumor

Corresponding author: Li Juan, Associate Professor, School of the Physics and Information Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, P. R. China, Tel: 0086-29-81530826, E-mail: jli2007@snnu.edu.cn