

卟啉基金属有机框架负载高铁酸钾: 光-化学动力学 联合治疗肿瘤性能研究

王玉伟^{1,2}, 陈佳杰², 田正芳³, 朱敏¹, 朱钰方²

(1. 上海理工大学 材料科学与工程学院, 上海 200093; 2. 中国科学院 上海硅酸盐研究所, 上海 200050; 3. 黄冈师范学院 化学化工学院 催化材料制备及应用湖北省重点实验室, 黄冈 438000)

摘要: 金属有机框架因具有多孔结构、高比表面积、丰富的官能团和金属活性位点以及良好的生物相容性和降解性而被广泛应用于生物医学领域。本研究提出以卟啉基金属有机框架纳米颗粒(PCN-224)为载体负载高化学价态的高铁酸钾氧化剂(K_2FeO_4 , Fe(VI)), 经牛血清蛋白(BSA)包覆表面制备多功能复合纳米颗粒(Fe(VI)@PCN@BSA), 用于肿瘤光-化学动力学联合治疗。实验结果表明, PCN-224 纳米颗粒粒径约为 90 nm, 而 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒粒径约为 100 nm。Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在模拟肿瘤微环境条件下能够催化 H_2O_2 反应, 产生有细胞毒性的 $\cdot OH$ 而实现化学动力学效应, 同时也能够氧化分解部分 H_2O_2 产生 O_2 , 在 660 nm 激光照射下提高单线态氧(1O_2) 产生量, 增强光动力学效应。进一步细胞实验证实 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒具有较好的生物相容性, 能够获得增强的光-化学动力学联合治疗肿瘤效果。因此, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在肿瘤治疗方面具有潜在的应用前景。

关键词: 金属有机框架; 高铁酸钾; 肿瘤微环境; 联合治疗

中图分类号: TQ174 文献标志码: A

Potassium Ferrate-loaded Porphyrin-based (VI) Metal-organic Frameworks for Combined Photodynamic and Chemodynamic Tumor Therapy

WANG Yuwei^{1,2}, CHEN Jiajie², TIAN Zhengfang³, ZHU Min¹, ZHU Yufang²

(1. School of Materials Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China; 3. Hubei Key Laboratory of Processing and Application of Catalytic Materials, College of Chemical Engineering, Huanggang Normal University, Huanggang 438000, China)

Abstract: Metal-organic frameworks (MOFs) are widely used in biomedicine due to their porous structure, high specific surface area, abundant functional groups with metal active sites, good biocompatibility, and suitable degradability. In this study, a multifunctional composite nanoparticle (Fe(VI)@PCN@BSA) was prepared for combined photodynamic and chemodynamic therapy of tumors, which was constructed by loading potassium ferrate (K_2FeO_4 , Fe(VI)) in porphyrin-based MOFs (PCN-224) and following a surface coating with biocompatible bovine serum albumin (BSA). The results showed that the particle sizes of PCN-224 and Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles were about 90 nm and 100 nm, respectively. Interestingly, Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles could catalyze H_2O_2 to produce $\cdot OH$ under a

收稿日期: 2021-03-12; 收到修改稿日期: 2021-04-15; 网络出版日期: 2021-06-01

基金项目: 上海理工大学科技发展项目(2018KJFZ016, 2019KJFZ023)

Project of University of Shanghai for Science and Technology (2018KJFZ016, 2019KJFZ023)

作者简介: 王玉伟(1993-), 女, 硕士研究生. E-mail: 676627664@qq.com

WANG Yuwei (1993-), female, Master candidate. E-mail: 676627664@qq.com

通信作者: 朱敏, 副教授. E-mail: mzhu@usst.edu.cn; 朱钰方, 教授. Email: zjf2412@163.com

ZHU Min, associate professor. E-mail: mzhu@usst.edu.cn; ZHU Yufang, professor. Email: zjf2412@163.com

simulating tumor environmental condition. Meanwhile, they catalyzed to decompose H_2O_2 to produce O_2 , and thereby increased the production of singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) under 660 nm laser irradiation, which enhanced the photodynamic effect. More importantly, *in vitro* evaluation indicated that Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles were biocompatible, and exhibited enhanced photodynamic and chemodynamic combined therapeutic efficacy against tumor cells. Hence, Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles have a great potential application in tumor therapy.

Key words: metal-organic framework; potassium ferrate; tumor microenvironment; combination therapy

肿瘤治疗一直是人们竭力攻克的世界难题。虽然传统的放疗、化疗等肿瘤治疗方法对抑制肿瘤发展、延长生存期起到了积极作用,但是其副作用大,治疗效果尚不能满足要求。因此,近年来一些新兴的肿瘤治疗方法不断涌现,例如化学动力学治疗^[1-2]、光动力学治疗^[3-4]、免疫治疗^[5]等。其中化学动力学治疗是利用铁介导芬顿反应,将肿瘤细胞内高浓度的内源 H_2O_2 转化为羟基自由基($\cdot\text{OH}$)而杀死肿瘤细胞。光动力学治疗是在局部肿瘤部位固定光敏剂,利用光照射后产生高毒性的单线态氧($^1\text{O}_2$)而实现杀死肿瘤细胞的目的。与传统的肿瘤治疗方法相比,动力学治疗具有靶向选择性、创伤小等优势。虽然新型的肿瘤治疗方式可以降低治疗副作用并增强治疗效果,但还存在一些需要解决的问题,如,为增强化学动力学治疗肿瘤效果,如何提高肿瘤微环境中的 H_2O_2 含量、降低肿瘤微环境的 pH 及谷胱甘肽的含量,以达到更好的肿瘤治疗效果^[6-8]。光动力学治疗肿瘤时,由于肿瘤微环境通常处于乏氧状态而抑制光动力学治疗效果,因此缓解肿瘤微环境的乏氧问题至关重要^[9]。

近年来,为了提高治疗效果,肿瘤治疗已从单一模式治疗逐渐向多模式治疗发展^[10-11]。有研究证实,多模式治疗能够实现增强肿瘤治疗效果的目的^[12-14]。金属有机框架(MOFs)因其独特的多孔性、结构组分的多样性、较大的比表面积和较高的孔隙率等优势,在催化、光学、生物等领域具有广阔的应用前景^[15-16]。卟啉基金属有机框架 PCN-224 具有较好的化学稳定性、较低的毒性、良好的光动力学性能,可作为纳米载体和光敏剂用于肿瘤光动力学治疗^[17-18]。但是,由于肿瘤微环境的乏氧问题,PCN-224 经近红外光照射产生 $^1\text{O}_2$ 用于光动力学治疗肿瘤受到很大限制^[19]。因此,若能在光动力学治疗的同时为肿瘤微环境提供 O_2 , 将有助于提高肿瘤治疗效果。

高铁酸钾(K_2FeO_4)是一种高化学价态的氧化物,具有强氧化性能。研究表明, K_2FeO_4 因其强氧化性能能够分解 H_2O_2 产生 O_2 , 在酸性/中性条件下可与水发生反应,也能产生 O_2 ^[20]。因此,如果将 K_2FeO_4 引入高浓度 H_2O_2 和乏氧的弱酸性肿瘤微环

境,一方面可利用 K_2FeO_4 与水反应生成 O_2 , 同时也可氧化分解部分 H_2O_2 产生 O_2 , 可有效提高肿瘤微环境的氧含量从而有利于光动力学治疗;另一方面, K_2FeO_4 的反应产物 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 离子在肿瘤微环境下可以进一步与 H_2O_2 反应生成有细胞毒性的 $\cdot\text{OH}$ 而实现肿瘤化学动力学治疗^[21]。

因此,本研究结合 PCN-224 良好的光动力学效应和 K_2FeO_4 可在肿瘤微环境下提供 O_2 、辅助化学动力学效应,提出制备 PCN-224 为载体负载 K_2FeO_4 且表面包覆生物相容性的 BSA 的复合纳米颗粒 Fe(VI)@PCN@BSA , 用于光-化学动力学联合治疗,提高肿瘤抑制效果。

1 实验方法

1.1 材料及试剂

牛血清蛋白(BSA)、高铁酸钾(K_2FeO_4 , AR)、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF, $\geq 99.5\%$)、苯甲酸(BA, $\geq 99.5\%$)、甲醇(CH_4O , $\geq 99.5\%$)、无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, $\geq 99.7\%$)、氢氧化钾(KOH, GR)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB, $\geq 99\%$)和二甲基亚砜(DMSO, $\geq 99\%$)购买于国药集团化学试剂有限公司;内消旋-四(4-羧基苯基)卟吩(TCPP, 97%)、八水氧氯化锆($\text{ZrClO}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, 99%)和 1,3-二苯基异苯并咪唑(DPBF, 97%)购买于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS)购买于上海润成生物科技有限公司;2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)和 CCK-8 购买于碧云天生物技术研究; Dulbecco's modified Eagle medium 培养基(DMEM)、Minimum essential medium 培养基(MEM)、胎牛血清(FBS)、青链霉素混合液、丙酮酸钠、非必需氨基酸溶液和胰酶购买于赛默飞世尔生物化学制品有限公司。所有试剂在使用前未经过进一步提纯处理。所使用的水均是 Milipore 超纯水配制。

1.2 金属有机框架 PCN-224 的合成

采用溶剂热法合成金属有机框架 PCN-224 纳米颗粒^[18-19], 具体实验步骤如下: 首先, 将 280 mg BA

和 30 mg $ZrClO_2 \cdot 8H_2O$ 溶于 100 mL DMF 中, 并在常温下磁力搅拌 30 min; 接着, 将 100 mg TCPP 加入上述溶液中并超声处理 10 min; 然后, 将混合液放置油浴中加热至 90 °C 并继续搅拌反应 5 h; 待温度冷却至室温后, 对反应溶液离心(13000 r/min, 25 min)处理得到紫色产物, 再用 DMF 清洗 3 次以去除未反应的前驱体, 得到 PCN-224 纳米颗粒; 最后, 将 PCN-224 纳米颗粒重新分散在 20 mL 的 DMF 中保存备用。

1.3 高铁酸钾的负载及 BSA 包覆

K_2FeO_4 的负载^[20,22-23]步骤如下: 首先, 取 20 mL PCN-224 溶液离心; 接着, 将离心得到的 PCN-224 重新分散于 20 mL 的甲醇溶液, 室温条件下静置 10 h, 再次离心; 将离心得到的 PCN-224 再次分散于 20 mL 氢氧化钾溶液; 将 K_2FeO_4 配制为 5 mg/mL 的氢氧化钾溶液, 取 10 mL 加入上述溶液中, 然后在室温下避光搅拌 10 min, 经离心分离得到负载 K_2FeO_4 的 PCN-224 纳米颗粒($Fe(VI)@PCN-224$)。最后, 将 $Fe(VI)@PCN-224$ 纳米颗粒重新分散于 20 mL 水中备用。

BSA 的包覆步骤^[24-25]如下: 将 BSA 配制成 10 mg/mL 的水溶液, 与 $Fe(VI)@PCN-224$ 溶液以质量比为 1:5 混合并在室温条件下避光搅拌 8 h; 然后, 离心并用去离子水清洗 3 次以去除没有包覆的 BSA, 得到 BSA 包覆的 $Fe(VI)@PCN-224$ 纳米颗粒($Fe(VI)@PCN@BSA$); 最后将 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒重新分散于去离子水中备用。

1.4 结构与理化性能表征

采用 Tecnai G2 F30 场发射透射电子显微镜(TEM)观察纳米颗粒的微观结构和形貌。采用 Rigaku D/MAX-2200 PC 型 X 射线衍射仪测定材料的 X 射线衍射图谱(XRD)。采用马尔文 Zetasizer Nano-ZS90 测试纳米颗粒的动态光散射(DLS)粒径分布情况和纳米颗粒表面 Zeta 电位。采用 UV-2550 紫外分光光度计测定化学动力学和光动力学的紫外-可见光吸收光谱。采用 Epoch 酶标仪测定微孔板吸光度, 计算细胞的存活率。采用荧光倒置显微镜(Olympus IX73P1F)观察细胞内染色后的活性氧(ROS)产物。

1.5 化学动力学性能测试

将 TMB 作为羟基自由基($\bullet OH$)探针, 依据 TMB 的显色反应分析 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的化学动力学性能。首先, 将 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒分散于含有 H_2O_2 (10 mmol/L)的 pH 6.0 乙酸钠缓冲液中, 其最终浓度为 50 $\mu g/mL$, 立刻加入 30 μL

TMB 的乙醇试液(10 mg/mL), 反应 30 min 后利用紫外分光光度计测试溶液的紫外-可见光吸收光谱。然后, 将 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒分散于含不同浓度 H_2O_2 (设置测试浓度分别为 1.25、2.5、5、10 mmol/L)的乙酸钠缓冲液(pH 6.0)中, 保持 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 在反应体系中的最终浓度为 50 $\mu g/mL$, 然后立刻加入 30 μL 的 TMB/乙醇测试液(10 mg/mL), 每间隔 1 min 测定溶液在 652 nm 处的吸光值。

1.6 光动力学性能测试

将 DPBF 作为 1O_2 探针, 根据特征吸光值变化分析 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的光动力学性能。实验步骤如下: 在 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒乙醇溶液(100 $\mu g/mL$)中加入 20 μL DPBF 的 DMSO 测试溶液(10 mmol/L), 然后用 660 nm 激光器(100 mW/cm^2)照射 10 min, 并且每间隔 1 min 用紫外分光光度计测定 1 次溶液的紫外-可见光吸收光谱。

1.7 细胞毒性测试

利用 CCK-8 方法测试计算细胞的存活率, 具体实验步骤如下: 将 MDA-MB-231 肿瘤细胞和成纤维细胞(1×10^4 个/孔)接种到 96 孔板内培养 24 h 使其贴壁生长; 接着移去孔板中的培养液, 再重新注入 100 μL 浓度分别为 0、6.25、12.5、25、50、100、200 和 400 $\mu g/mL$ 的含 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的培养液共同培养 24 h; 然后移去上述培养液, 在孔板的每个孔内注入 100 μL 的 10% CCK-8/纯 MEM 培养基, 继续培养 2 h; 最后, 利用酶标仪测试在 450 nm 处孔板的每个孔的吸光值, 根据不同组别与空白组的吸光值差异计算细胞存活率, 从而判定 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的细胞毒性。

1.8 细胞内活性氧(ROS)测试

采用荧光倒置显微镜观测 MDA-MB-231 细胞内 ROS 情况。实验组别为: (a) Control (正常培养基培养细胞); (b) $Fe(VI)@PCN@BSA$ (纳米颗粒与细胞在正常培养基中共培养); (c) H_2O_2 (100 $\mu mol/L$, pH 6) (细胞在模拟肿瘤微环境的培养基中培养); (d) $Fe(VI)@PCN@BSA+H_2O_2$ (100 $\mu mol/L$, pH 6.0) (纳米颗粒与细胞在模拟肿瘤微环境的培养基中共培养); (e) Laser (正常培养基培养细胞后进行激光照射处理); (f) $Fe(VI)@PCN@BSA+Laser$ (纳米颗粒与细胞共培养后作激光照射处理); (g) $Fe(VI)@PCN@BSA+H_2O_2$ (100 $\mu mol/L$, pH 6.0) + Laser (纳米颗粒与细胞在模拟肿瘤微环境的培养基中共培养后进行激光照射处理)。具体实验步骤如下:

将 MDA-MB-231 细胞(5×10^4 个/孔)接种到 24 孔板内培养 24 h 使其贴壁生长;接着移去培养液,在需要注入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的孔板中((b)、(d)、(f)、(g)组)每个孔内重新注入 500 μL 浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 含 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的培养液,其它组别((a)、(c)、(e)组)只更换正常新鲜培养基;共同培养 4 h 后,分别更换相应的新鲜培养基(包括正常培养基((a)、(b)、(e)、(f)组)和模拟肿瘤微环境的培养基((c)、(d)、(g)组),其中(c)、(d)、(g)组利用盐酸调节 pH 为 6.0 并加入 H_2O_2 (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$),并对相应的(e~g)组进行 660 nm 激光 (100 mW/cm^2 , 3 min)照射处理。随后,各组加入 DCFH-DA 检测试剂再培养 20 min。移去检测液,利用 PBS 溶液清洗 3 次后利用荧光倒置显微镜观测 MDA-MB-231 细胞内 ROS,绿色荧光代表生成的 ROS。

1.9 肿瘤细胞光-化学动力学联合治疗效果测试

采用 CCK-8 方法测试细胞的光-化学动力学联合治疗效果。实验组别与细胞内 ROS 测试相同。具体实验步骤如下:将 MDA-MB-231 细胞(1×10^4 个/孔)接种到 96 孔板内,培养 24 h 使其贴壁生长;接着移去培养液,再在需要注入纳米颗粒的孔板中每个孔内重新注入 100 μL 浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒培养液共同培养((b)、(d)、(f)、(g)组),其它(a)、(c)、(e)组只更换正常新鲜培养基。培养 4 h 后,对(a)、(b)、(e)、(f)组更换正常的新鲜培养基,对(c)、(d)、(g)组更换模拟肿瘤微环境的培养基并进行 660 nm 激光(100 mW/cm^2 , 3 min)照射处理。不同组别的细胞处理后再继续培养 24 h,然后移除培养液,最后利用同样的 CCK-8 方法测试计算不同组别 MDA-MB-231 细胞的存活率,从而判定对肿瘤细胞的治疗效果。

2 结果与讨论

2.1 PCN-224 的微观结构与形貌

本研究制备 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒包括 PCN-224 合成、 K_2FeO_4 负载和 BSA 表面包覆。

图 1(a~c)分别是 PCN-224、Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 TEM 照片。从图中可以看出,制备的 PCN-224 纳米颗粒具有良好的分散性和较均一的颗粒尺寸,颗粒粒径约为 90 nm。Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒与 PCN-224 纳米颗粒相比,其颗粒粒径无明显差异,但是可以清晰地观察到在 Fe(VI)@PCN@BSA 颗粒

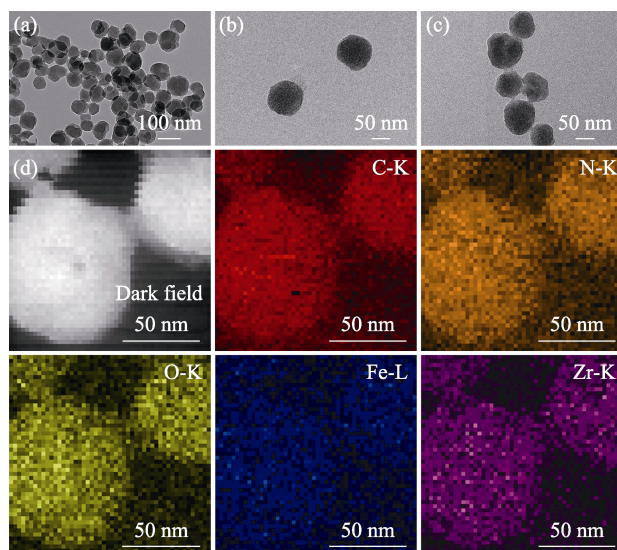


图 1 (a)PCN-224、(b)Fe(VI)@PCN-224 和(c)Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 TEM 照片及(d)Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的元素分布图

Fig. 1 TEM images of (a) PCN-224, (b) Fe(VI)@PCN-224 and (c) Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles, and (d) elemental mapping of Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles

表面包覆薄薄的一层有机质,说明 BSA 已包覆在颗粒表面,根据 UV-Vis 分析可得 BSA 包覆质量百分比约为 24%。另一方面,Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒同样具有良好的分散性,有利于在肿瘤区域富集及肿瘤细胞内吞。从 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的元素分布图(图 1(d))可以看出,C、N、O、Zr、Fe 元素在颗粒中均匀分布,其中 Fe 元素分布均匀表明 K_2FeO_4 在 PCN-224 中成功负载,且负载质量百分比为 1.58%。

图 2 是 K_2FeO_4 与 Fe(VI)@PCN@BSA 制备过程各阶段纳米颗粒的 XRD 图谱。由图谱可知, K_2FeO_4 在 $2\theta=30^\circ$ 附近出现了明显的特征衍射峰^[20];PCN-224 纳米颗粒除了 $2\theta=5^\circ\sim 15^\circ$ 范围有较弱的衍射峰外,

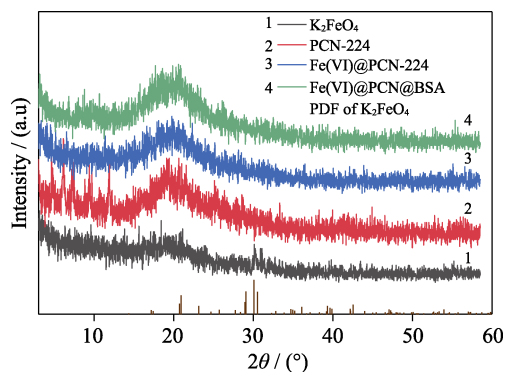


图 2 K_2FeO_4 、PCN-224、Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 XRD 图谱

Fig. 2 XRD patterns of K_2FeO_4 , PCN-224, Fe(VI)@PCN-224, and Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles

在 $2\theta=20^\circ$ 附近出现了馒头峰, 表明 PCN-224 纳米颗粒结晶性较弱。负载 K_2FeO_4 的 PCN-224 纳米颗粒的特征衍射峰变弱且几乎观察不到 K_2FeO_4 的特征衍射峰, $Fe(VI)@PCN-224$ 纳米颗粒表面包覆 BSA 前后的衍射图谱几乎没有变化。以上结果表明, 由于 PCN-224 的微孔限域效应^[26], K_2FeO_4 负载在 PCN-224 的微孔后呈现非晶状态, 而且 BSA 包覆 $Fe(VI)@PCN-224$ 纳米颗粒不影响其结构。

图 3 是 PCN-224、 $Fe(VI)@PCN-224$ 和 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的 DLS 粒径分布图和颗粒表面 Zeta 电位变化图, 从图中可以看出, PCN-224、 $Fe(VI)@PCN-224$ 和 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒

的平均粒径分别约为 90、93 和 100 nm; PCN-224 纳米颗粒经 K_2FeO_4 负载和 BSA 包覆, 其表面电位由 17.1 mV 依次变为 -11.2 和 -20.8 mV。以上纳米颗粒粒径和表面 Zeta 电位的变化也表明 PCN-224 成功负载 K_2FeO_4 和 BSA 包覆^[27]。另一方面, PCN-224 纳米颗粒经 K_2FeO_4 负载和 BSA 包覆后, 粒径分布略有变宽, 但总体呈现较窄的粒径分布, 表明分散性较好。如图 4 所示, $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒在 H_2O 、PBS 和 DEME 培养基中的粒径和 Zeta 电位在静置 3 d 后无明显差异, 表明 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒在这些溶液中具有较好的稳定性。本实验中, $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒在 H_2O 、PBS 和

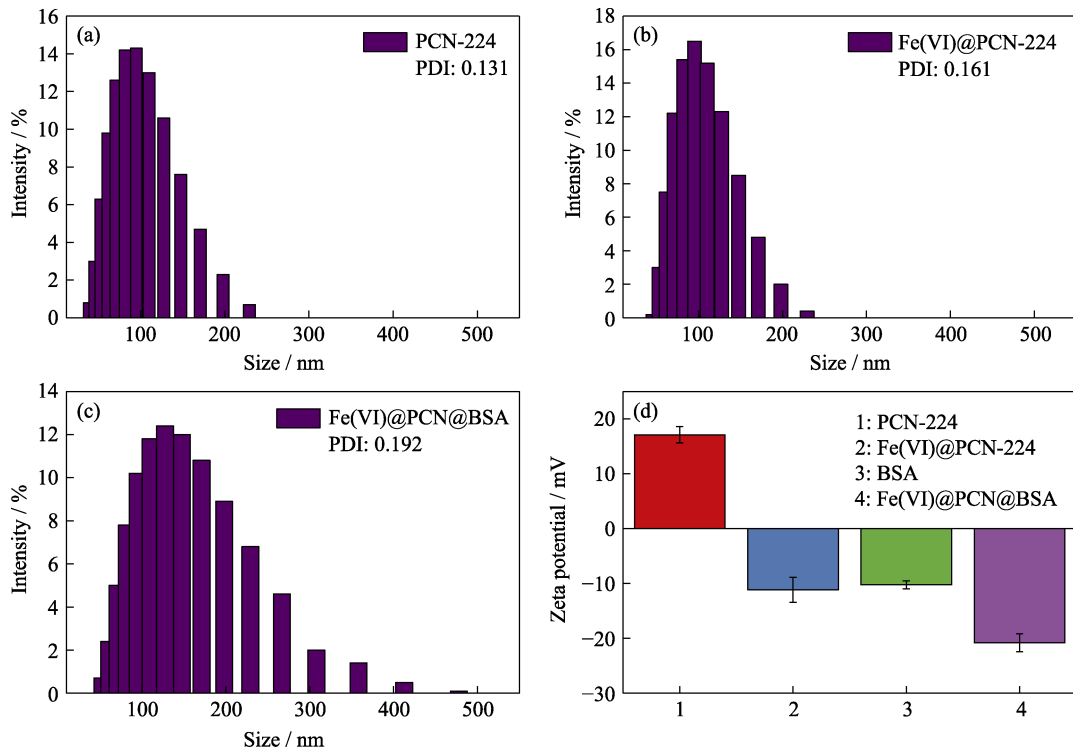


图 3 (a)PCN-224、(b) $Fe(VI)@PCN-224$ 和(c) $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的 DLS 粒径分布图以及 (d)BSA 和 PCN-224、 $Fe(VI)@PCN-224$ 、 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒的表面 Zeta 电位

Fig. 3 DLS size distributions of (a) PCN-224, (b) $Fe(VI)@PCN-224$ and (c) $Fe(VI)@PCN@BSA$ nanoparticles, and (d) Zeta potentials of BSA, PCN-224, $Fe(VI)@PCN$, and $Fe(VI)@PCN@BSA$ nanoparticles

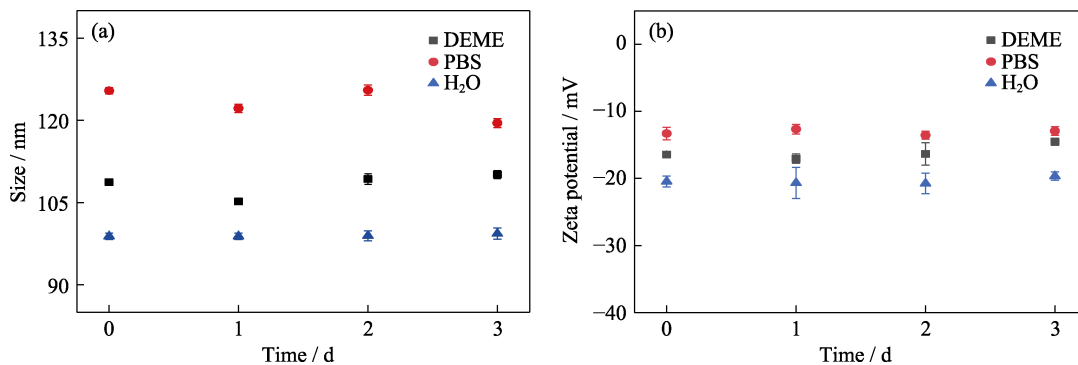


图 4 $Fe(VI)@PCN@BSA$ 纳米颗粒在 H_2O 、PBS 和 DEME 培养基中的(a)粒径和(b)Zeta 电位的变化图

Fig. 4 Changes of (a) size and (b) Zeta potential of $Fe(VI)@PCN@BSA$ nanoparticles in H_2O , PBS and DEME

DEME 中的粒径略有不同, 可能是因为 DLS 测试的颗粒粒径是水合粒径, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在不同溶液中的水合程度不同而使得测试粒径略有差别。

图 5(a)是 PCN-224、Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在 300~700 nm 波长范围内的紫外-可见光吸收光谱图, 从图中可以看出, PCN-224 纳米颗粒经 K_2FeO_4 负载以及 BSA 包覆表面后都在 418 nm 处出现较强特征吸收峰, 并在 525、562、600 和 660 nm 处出现四个逐渐变弱的特征吸收峰, 分别对应 PCN-224 中卟啉配体的强 Soret 带吸收和四个较弱的 Q 带吸收^[28]。另一方面, Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的紫外-可见光特征吸收没有明显的变化, 表明 K_2FeO_4 负载和 BSA 包覆没有改变 PCN-224 的结构。此外, BSA 为黄色, 当其通过静电吸附和 $\pi-\pi$ 键相互作用包覆在 Fe(VI)@PCN-224 表面后使颗粒溶液的颜色发生了改变^[27]。从 PCN-224 负载 K_2FeO_4 和 BSA 包覆前后纳米颗粒的 FT-IR 图谱(图 5(b))可以看出, 在 2925、1656、1584、1538 以及 1384 cm^{-1} 处的特征峰分别对应

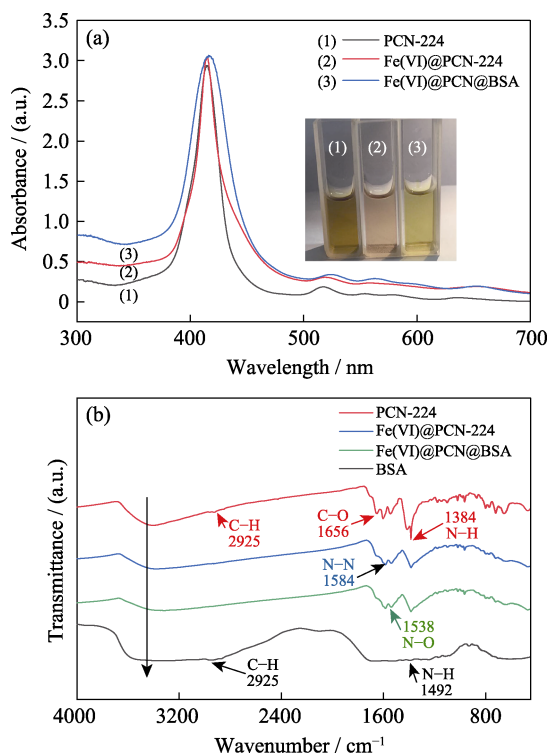


图 5 (a)PCN-224、Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的紫外-可见光吸收光谱图, 其中插图为纳米颗粒悬浮液的光学照片, 以及(b)BSA、PCN-224、Fe(VI)@PCN-224 和 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的傅里叶变换红外光谱图
Fig. 5 (a) UV-Vis absorption spectra of PCN-224, Fe(VI)@PCN-224, and Fe(VI)@PCN@BSA suspensions (inset is pictures of the suspensions), and (b) Fourier transform infrared spectra of BSA, PCN-224, Fe(VI)@PCN-224, and Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles

PCN-224 中 C-H、C-O、N-N、N-O 和 N-H 的伸缩振动; K_2FeO_4 负载和 BSA 包覆后纳米颗粒除了 C-O 键伸缩振动略微变弱外, 其他特征振动峰没有明显变化^[29-30], 同样表明 K_2FeO_4 负载和 BSA 包覆没有对 PCN-224 结构造成破坏, 从而保证 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的光动力学效应。

2.2 化学动力学性能

研究采用 TMB 分子作为探针测试分析 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的化学动力学性能, 这是由于 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒与 H_2O_2 反应产生的 $\bullet OH$ 可使 TMB 发生显色反应(由无色的 TMB 转化为蓝色的氧化态 TMB (oxTMB)), 从而可以利用紫外-可见光吸收光谱来测定 $\bullet OH$ 的产生^[31]。由图 6(a)可以看出, 在酸性条件下, TMB 测试液中同时加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒和 H_2O_2 , 反应 10 min 后会呈现绿色, 而纯 TMB 测试液、只加入 H_2O_2 和只加 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 TMB 测试液在反应 10 min 后仍然保持无色。对应于上述测试液的 UV-Vis 吸收光谱, TMB+ H_2O_2 +Fe(VI)@PCN@BSA 测试液在 370、420 和 652 nm 处出现明显的对应于 oxTMB 的特征吸收峰, 而纯 TMB 测试液、TMB+ H_2O_2 测试液和 TMB+Fe(VI)@PCN@BSA 测试液则没有出现任何吸收峰, 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在酸性环境下可以催化 H_2O_2 产生有毒的 $\bullet OH$ 。

图 6(b~d)分别是在酸性 (pH 6.0) 和 H_2O_2 (10 mmol/L) 的条件下加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒 (50 $\mu g/mL$)、在酸性 (pH 6.0) 条件下只加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒 (50 $\mu g/mL$) 和在酸性 (pH 6.0) 和 H_2O_2 (10 mmol/L) 的条件下不加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 TMB 测试液在 550~750 nm 范围内吸光值随时间变化的曲线, 可以看出, 只有在酸性 (pH 6.0) 和 H_2O_2 (10 mmol/L) 的双条件下加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 TMB 测试液, 随着反应时间的延长, 其特征吸收值才逐渐增强, 即 $\bullet OH$ 的产量也随之增加, 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒能够持续催化 H_2O_2 生成 $\bullet OH$ 。而在酸性条件下, 不加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒或 H_2O_2 都没有明显的特征吸收峰。这表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒是生成 $\bullet OH$ 的关键因素之一。

图 6(e)是在酸性 (pH 6.0) 或中性 (pH 7.4) 条件下, 以及有或没有 H_2O_2 条件下, 加入纳米颗粒 Fe(VI)@PCN@BSA 的 TMB 测试液在 652 nm 处的吸光值随时间的变化曲线, 从图中可以看出, 在没有 H_2O_2 时,

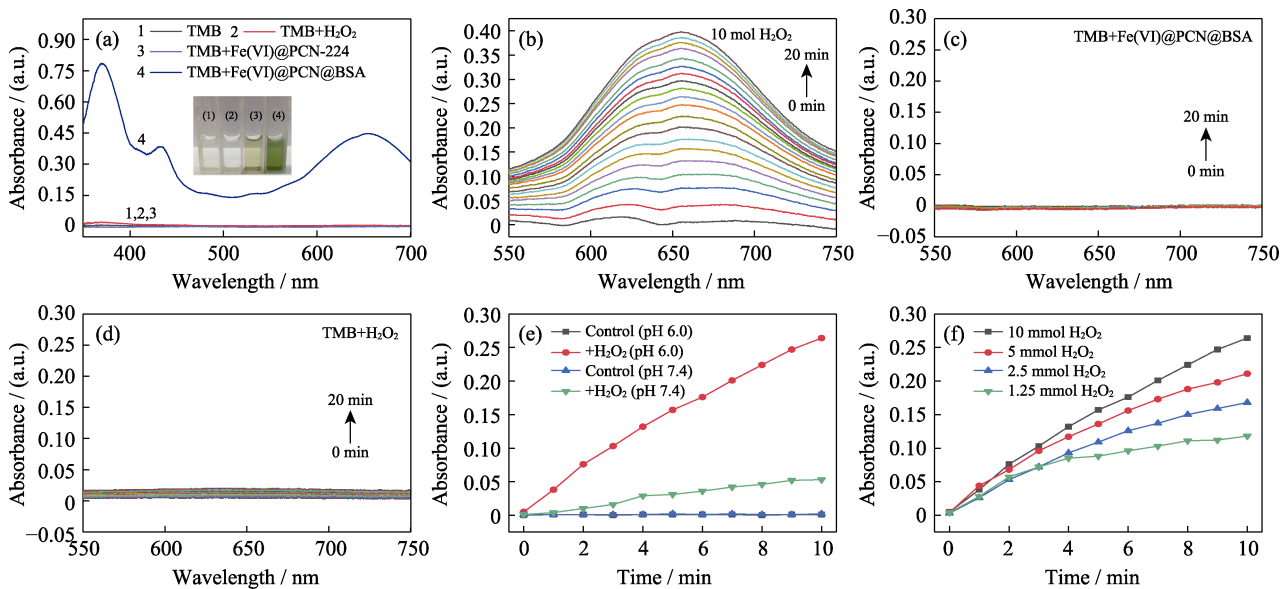


图 6 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的化学动力学性能

Fig. 6 Chemodynamic properties of Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles

(a) UV-Vis absorption spectra of TMB solutions under different conditions with inset showing photographs of TMB solutions after reaction for 10 min under different conditions; (b) Absorbance changes of TMB solutions with time after adding Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles (50 $\mu\text{g/mL}$) into TMB solutions under pH 6.0 with H_2O_2 (10 mmol/L); (c) Absorbance changes of TMB solutions with time after adding Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles (50 $\mu\text{g/mL}$) into TMB solutions with pH 6.0; (d) Absorbance changes of TMB solutions with time under pH 6.0 with H_2O_2 (10 mmol/L); (e) Curves of absorbance at 652 nm versus time for TMB solutions with Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles under acidic (pH 6.0) or neutral (pH 7.4) conditions with or without H_2O_2 ; (f) Absorbance changes at 652 nm versus time for TMB solutions under pH 6.0 with different concentrations of H_2O_2 after adding the same amount of Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles

不同 pH 环境下的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒都没有引起 TMB 测试液在 652 nm 处吸光值变化; 在含有 H_2O_2 的条件下, pH 7.4 的 TMB 测试液中加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒, 其在 652 nm 处的吸光值随时间延长只有略微增大, 但是 pH 6.0 的 TMB 测试液中加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒, 其在 652 nm 处的吸光值显著增大, 并且与反应时间呈正相关。以上结果表明, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒只有在酸性环境中才能通过芬顿反应催化 H_2O_2 , 产生大量有细胞毒性的 $\cdot\text{OH}$ ^[21], 进而杀死肿瘤细胞。

图 6(f)为加入不同浓度 H_2O_2 的 TMB 测试液 (pH 6.0) 中加入相同量的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒后, 其在 652 nm 处吸光值随时间的变化曲线, 可以看出, 当反应时间相同时, 随着 TMB 测试液中 H_2O_2 浓度的增加, 其吸光值也不断增大, 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在酸性条件下催化 H_2O_2 反应产生 $\cdot\text{OH}$ 的能力与 H_2O_2 浓度呈正相关^[31]。因此, 高浓度 H_2O_2 的肿瘤酸性微环境有利于 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒催化 H_2O_2 反应产生 $\cdot\text{OH}$, 进而实现化学动力学治疗肿瘤。

2.3 溶解氧测试

为了进一步证实 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒能否在 H_2O_2 存在的环境下产生氧气, 增强其光动力学性能, 本研究测试了加入 Fe(VI)@PCN@BSA

纳米颗粒后, 含有不同浓度 H_2O_2 的乙酸钠缓冲液 (pH 6.0 或 pH 7.4) 中的溶解氧含量变化 (图 7)。从图中结果可以看出, 在含有 H_2O_2 的乙酸钠测试液中, 加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒都能提高溶解氧含量。 H_2O_2 浓度升高, 测试液中溶解氧含量增加, 并且随着反应时间延长, 溶解氧含量逐渐增加, 之后达到最大的溶解氧含量。这是由于 K_2FeO_4 作为强氧化剂能够氧化分解 H_2O_2 产生 O_2 ^[20]。这一结果也表明 K_2FeO_4 负载在 PCN-224 上仍然保持其强氧化性能。因此, 可以推测当 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒用于肿瘤治疗时, 肿瘤微环境中高浓度的 H_2O_2 可以在肿瘤部位产生 O_2 , 有利于缓解肿瘤微环境缺氧, 进而增强光动力学治疗肿瘤效果。另外, 相对 pH 6.0 的环境, 在 pH 7.4 的环境下 O_2 的产量更多, 这是由于 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在酸性条件下更利于芬顿反应催化 H_2O_2 产生更多的 $\cdot\text{OH}$ ^[32], 而在中性条件下的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒则有利于氧化 H_2O_2 为 O_2 ^[20,33]。

2.4 光动力学性能

Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒中的 TCPP 光敏剂分子在激光照射下通过光动力作用将 O_2 转化为 $^1\text{O}_2$, 而 $^1\text{O}_2$ 能使 DPBF 分子氧化分解, 使得 DPBF 在 UV-Vis 吸收光谱上的特征吸收强度减弱, 以此可以测定 $^1\text{O}_2$ 的产生^[34]。

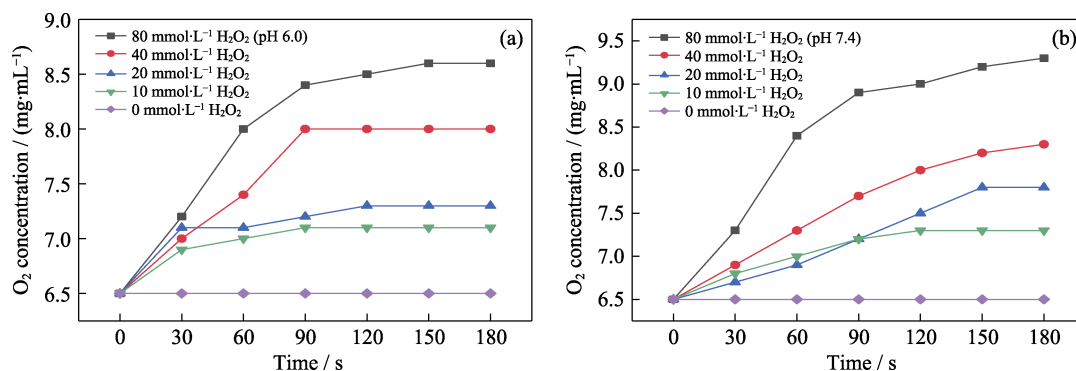


图 7 (a)pH 6.0 和 (b)pH 7.4, 不同 H₂O₂ 浓度的乙酸钠测试液中加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒(50 μg/mL)后的溶解氧含量变化图

Fig. 7 Changes of dissolved O₂ in NaAc solutions under (a) pH 6.0 and (b) pH 7.4 with different H₂O₂ concentrations after the addition of Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles (50 μg/mL)

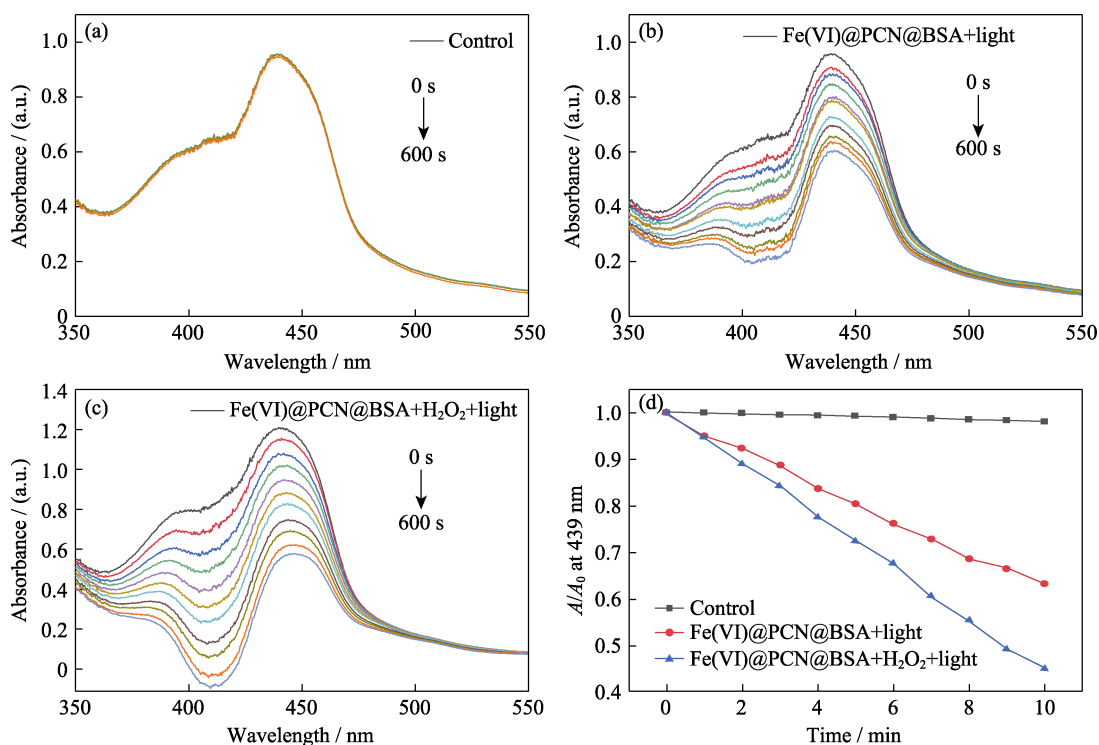


图 8 (a-c)加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒(50 μg/mL)的 DPBF 溶液在不同处理条件下的紫外-可见光吸收光谱图及(d)不同组别的 DPBF 溶液在 439 nm 处的特征吸收值变化图

Fig. 8 (a-c) UV-Vis absorbance spectra of the DPBF solutions with Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles (50 μg/mL) and (d) absorbance changes of DPBF solutions at 439 nm for different groups (a) Without 660 nm laser irradiation; (b) With 660 nm laser irradiation; (c) With H₂O₂ (10 mmol/L) and 660 nm laser irradiation

从图 8 结果可知, 加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 DPBF 溶液在没有 660 nm 激光照射下吸收值变化非常微小(图 8(a)), 而加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 DPBF 溶液在 660 nm 激光照射下, 其特征吸光值明显下降(图 8(b,c)), 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在 660 nm 激光照射下将 DPBF 溶液中的溶解氧转化为¹O₂, 继而氧化分解 DPBF 分子。另一方面, 加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒

与 H₂O₂ 的 DPBF 溶液经 660 nm 激光照射后的特征吸收值比只加入 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的 DPBF 溶液进一步下降(图 8(d)), 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒中 K₂FeO₄ 氧化分解 H₂O₂ 产生更多 O₂, 进而促进 Fe(VI)@PCN@BSA 的光动力作用产生更多¹O₂[35]。因此, 由于肿瘤微环境中的高浓度 H₂O₂, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒用于光动力学治疗肿瘤时能够缓解缺氧状况而增强其光动力学治疗效果。

2.5 细胞毒性测试

在进行肿瘤细胞光-化学动力学联合治疗之前, 将 MDA-MB-231 作为肿瘤细胞和成纤维细胞作为正常细胞模型细胞, 利用 CCK-8 方法评估 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的细胞毒性(图 9)。

MDA-MB-231 细胞和成纤维细胞分别与不同浓度的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒培养液共培养 24 h 后的细胞存活率显示, 随着 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的浓度增长, 正常细胞都保持很高的存活率, 即使当颗粒浓度达到高浓度 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其细胞存活率依然保持 90%以上, 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒对成纤维细胞几乎没有细胞毒性, 具有较好的生物相容性^[36]。然而, 对肿瘤细胞而言,

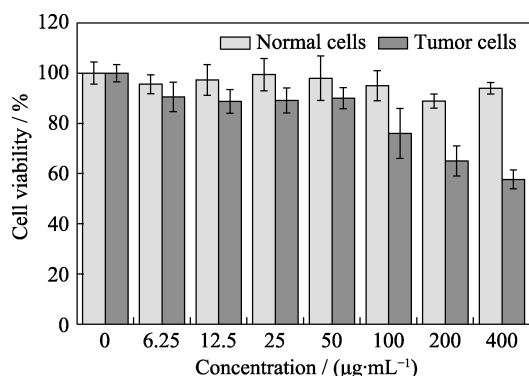


图 9 不同浓度 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒对 MDA-MB-231 细胞和成纤维细胞作用 24 h 后的细胞存活率

Fig. 9 Cell viabilities of MDA-MB-231 cells and human dermal fibroblasts after 24 h incubation with Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles at different concentrations

Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒浓度低于 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 其细胞存活率只能维持 90%左右, 但当颗粒浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 其细胞存活率低于 80%, 并且继续增加颗粒浓度, 其细胞存活率进一步下降。以上结果说明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒可以选择性杀死肿瘤细胞。这可能归因于 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒被肿瘤细胞内吞后, 在肿瘤细胞内弱酸性环境中催化过度合成的 H_2O_2 产生有毒的 $\cdot\text{OH}$ 而造成细胞死亡。

2.6 细胞内 ROS 分析

本实验模拟实体瘤的弱酸环境(pH 6.0)和 H_2O_2 过度合成环境(100 $\mu\text{mol}/\text{L}$)下培养的 MDA-MB-231 细胞对不同条件处理后的细胞内 ROS (主要包括 $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$)浓度变化情况, 以此分析 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒的光-化学动力学效应。根据已有报道^[37], 本身无荧光的 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯 (DCFH-DA) 具有较好的细胞膜渗透性, 进入细胞后能被快速水解生成 2',7'-二氯二氢荧光素 (DCFH), 而 ROS 能快速氧化 DCFH 生成强绿色荧光产物 2',7'-二氯荧光素 (DCF), 因而可根据荧光强度来判断 ROS 的产生量。

如图 10 所示, 当 MDA-MB-231 细胞没有与 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒共培养时, 细胞培养环境调整到 pH 6.0、提高 H_2O_2 浓度以及延长 660 nm 激光照射时间, 都没有出现明显的绿色荧光。而当 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒与 MDA-MB-231 细胞共同培养后, 出现了一定的绿色荧光, 说明被细胞

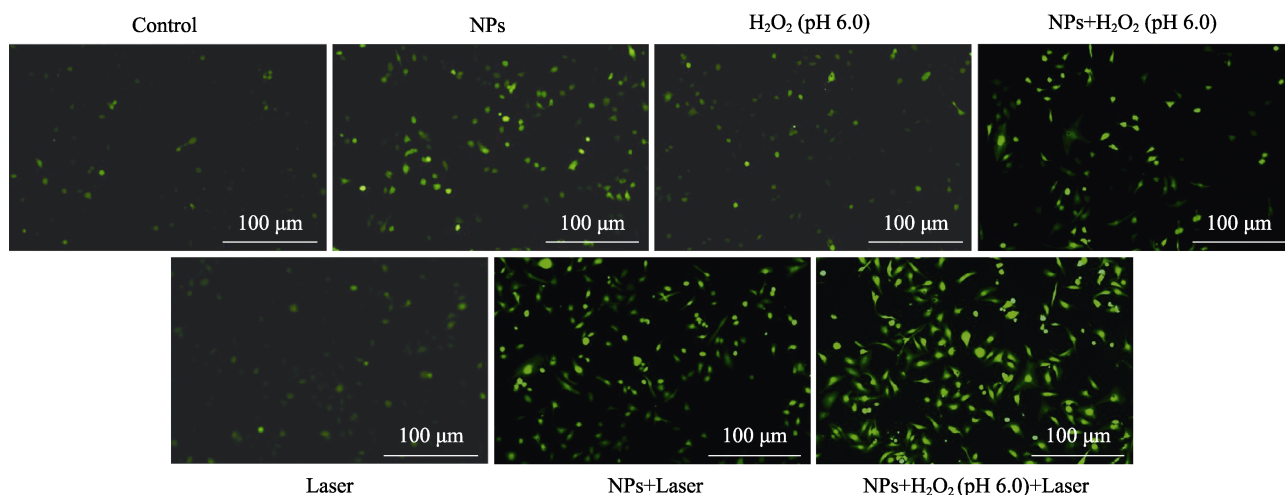


图 10 不同条件处理的 MDA-MB-231 细胞内 ROS 的荧光显微照片

Fig. 10 Fluorescence images of MDA-MB-231 cells after different treatments for observing intracellular ROS
Control: cells were cultured in normal medium; NPs: cells were cultured in normal medium with Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles; H_2O_2 (pH 6.0): cells were cultured in the medium at pH 6.0 with H_2O_2 (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$); NPs+ H_2O_2 (pH 6.0): cells were cultured in the medium at pH 6.0 with H_2O_2 (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$) and Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles; Laser: 660 nm laser irradiation after cells culture in normal medium; NPs+Laser: 660 nm laser irradiation after cell culture in normal medium with Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles; NPs+ H_2O_2 (pH 6.0)+Laser: 660 nm laser irradiation after cell culture in the medium at pH 6.0 with H_2O_2 (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$) and Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles

内吞的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒与细胞内的 H₂O₂ 反应生成•OH。当细胞培养环境调整为 pH 6.0 以及 H₂O₂ 水平升高, 或者 660 nm 激光照射细胞时, 其细胞内的绿色荧光明显增强, 表明肿瘤微环境的 H₂O₂ 水平升高可以提高•OH 的生成量^[5]; 另一方面, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒作为光敏剂可以在 660 nm 激光照射下生成 ¹O₂。而当 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在 pH 6.0 和高水平 H₂O₂ 环境中与 MDA-MB-231 细胞共培养、利用 660 nm 激光照射时, 细胞内呈现最强的绿色荧光, 表明在此环境条件下化学动力学和光动力学的联合作用, 生成更多的 ROS 杀死肿瘤细胞, 有利于提高肿瘤治疗效果^[38]。

2.7 肿瘤细胞光-化学动力学联合治疗效果评估

在证实 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒具有较低的细胞毒性、良好的化学动力学和光动力学性能的基础上, 本实验进一步评估了 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒对 MDA-MB-231 细胞的联合治疗效果。

如图 11 所示, MDA-MB-231 细胞在模拟肿瘤微环境(pH 6.0、100 μmol/L H₂O₂)下培养, 其细胞存活率约为 89.4%; 当 MDA-MB-231 细胞与 Fe(VI)@PCN@BSA (100 μg/mL)纳米颗粒共培养后的细胞存活率约为 82.5%; 而当 MDA-MB-231 细胞在模拟肿瘤细胞微环境下与 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒共培养, 其细胞存活率下降到约为 69.2%, 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒具有显著肿瘤特异性化学动力学治疗效果。另一方面, 当 MDA-MB-231 细胞在正常培养基中培养并进行 660 nm 激光照射时, 其细胞存活率约为 88.8%; 而当 MDA-MB-231 细胞在正常培养基与 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒共培养并进行 660 nm 激光照射, 其细胞存活率下降到约为 39.2%, 表明 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒因卟啉配体的光动力学效应而能够高效杀死肿瘤细胞^[39-40]。更为重要的是, 当 MDA-MB-231 细胞在模拟肿瘤细胞微环境下与 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒共培养, 再辅以 660 nm 激光照射, 其细胞存活率下降至约 23.4%, 表现出显著的增强光-化学动力学联合治疗效果。以上结果显示, 光动力学效应明显强于化学动力学效应, 而 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒中的 K₂FeO₄ 在酸性条件下可以氧化分解部分 H₂O₂ 生成 O₂, 虽然因消耗部分 H₂O₂ 而损失了部分化学动力学效应, 但是生成的 O₂ 为增强光动力学效应提供了条件^[5]。因此, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒总体上对肿瘤细胞的治疗呈现增强的光-化学动力学联合治疗效果。

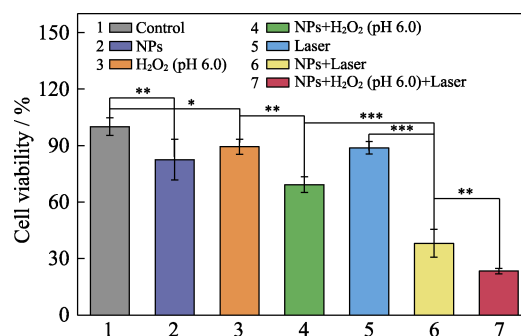


图 11 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒对 MDA-MB-231 细胞的联合治疗评估(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

Fig. 11 Synergistic therapeutic effect of Fe(VI)@PCN@BSA nanoparticles on MDA-MB-231 cells (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

3 结论

本研究设计制备了以卟啉基金属有机框架 PCN-224 纳米颗粒为载体、负载 K₂FeO₄ 并以生物相容性的 BSA 包覆表面的 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒作为纳米治疗平台, 用于增强的光-化学动力学联合肿瘤治疗。在模拟弱酸性肿瘤微环境下, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒可以催化 H₂O₂ 反应生成有细胞毒性的•OH, 获得化学动力学治疗效果; 同时 Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒还是光敏剂且可以氧化分解 H₂O₂ 产生 O₂, 为光动力学治疗增加 O₂ 供给, 提高光动力学治疗效果, 实现了增强光-化学动力学联合治疗肿瘤的效果。因此, Fe(VI)@PCN@BSA 纳米颗粒在肿瘤治疗领域具有应用前景。

参考文献:

- [1] LIU CHUANG, XING JIE, AKAKURU OZIOMA UDOCHUKWU, et al. Nanozymes-engineered metal-organic frameworks for catalytic cascades-enhanced synergistic cancer therapy. *Nano Letters*, 2019, **19**(8): 5674–5682.
- [2] TANG ZHONGMIN, LIU YTANTAN, HE MINGYUAN, et al. Chemodynamic therapy: tumor microenvironment-mediated fenton and fenton-like reaction. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, **58**(4): 946–956.
- [3] MIN HUAN, WANG JING, QI YINGQIU, et al. Biomimetic metal-organic framework nanoparticles for cooperative combination of antiangiogenesis and photodynamic therapy for enhanced efficacy. *Advanced Materials*, 2019, **31**(15): 1808200.
- [4] DAI XINXIN, DU TING, HAN KAI. Engineering nanoparticles for optimized photodynamic therapy. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2019, **5**(12): 6342–6354.
- [5] CHANG MENGJU, WANG MAN, WANG MEIFANG, et al. A multifunctional cascade bioreactor based on hollow structured Cu₂MoS₄ for synergetic cancer chemo-dynamic therapy/starvation therapy/phototherapy/immunotherapy with remarkably enhanced efficacy. *Advanced Materials*, 2019, **31**(51): 1905271.
- [6] SCHUBERT JONAS, RADEKE CARMEN, FERY ANDREAS, et al. The role of pH, metal ions and their hydroxides in charge reversal of protein-coated nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical*

- Physics*, 2019, **21(21)**: 11011–11018.
- [7] ZENG JINYUE, ZHANG MINGKANG, PENG MENGYUN, *et al.* Porphyrinic metal-organic frameworks coated gold nanorods as a versatile nanoplatform for combined photodynamic/photothermal/chemotherapy of tumor. *Advanced Functional Materials*, 2018, **28(8)**: 1705451.
- [8] CHEN JIAJIE, LIU JIAXING, HU YAPING, *et al.* Metal-organic framework-coated magnetite nanoparticles for synergistic magnetic hyperthermia and chemotherapy with pH-triggered drug release. *Science and Technology of Advanced Materials*, 2019, **20(1)**: 1043–1054.
- [9] CHEN JIAJIE, ZHU YUFANG, WU CHENGTIE, *et al.* Nanoplatform-based cascade engineering for cancer therapy. *Chemical Society Reviews*, 2020, **49(24)**: 9057–9094.
- [10] WANG ZHENG, ZHANG FAN, SHAO DAN, *et al.* Janus nanobullets combine photodynamic therapy and magnetic hyperthermia to potentiate synergetic anti-metastatic immunotherapy. *Advanced Science*, 2019, **6(22)**: 1901690.
- [11] ZHANG YA-RU, LIN RUN, LI HONG-JUN, *et al.* Strategies to improve tumor penetration of nano-medicines through nanoparticle design. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2019, **11(1)**: e1519.
- [12] PRASAD MINAKSHI, LAMBE UPENDRA P, BRAR BASANTI, *et al.* Nanotherapeutics: an insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, **97**: 1521–1537.
- [13] LU KUANGDA, AUNG THEIET, GUO NINING, *et al.* Nanoscale metal-organic frameworks for therapeutic, imaging, and sensing applications. *Advanced Materials*, 2018, **30(37)**: 1707634.
- [14] MAO FANGXIN, WEN LING, SUN CAIXIA, *et al.* Ultrasmall biocompatible Bi₂Se₃ nanodots for multimodal imaging-guided synergistic radiophotothermal therapy against cancer. *ACS Nano*, 2016, **10(12)**: 11145–11155.
- [15] WU CHUANDE, ZHAO MIN. Incorporation of molecular catalysts in metal-organic frameworks for highly efficient heterogeneous catalysis. *Advanced Materials*, 2017, **29(14)**: 1605446.
- [16] CHEN JIAJIE, LINSHIYANG, ZHAO DOUDOU, *et al.* Palladium nanocrystals-engineered metalorganic frameworks for enhanced tumor inhibition by synergistic hydrogen/photodynamic therapy. *Advanced Functional Materials*, 2020, **31(4)**: 2006853.
- [17] WANG SHUNZHI, MCGUIRK C MICHAEL, D'AQUINO ANDREA, *et al.* Metal-organic framework nanoparticles. *Advanced Materials*, 2018, **30(37)**: 1800202.
- [18] CHEN HUANG, ZHANG LINGYU, LIU SONG, *et al.* Double enhanced energy storage density via polarization gradient design in ferroelectric poly(vinylidene fluoride)-based nanocomposites. *Chemical Engineering Journal*, 2021, **411(18)**: 128585.
- [19] ZHANG YAN, WANG FAMING, LIU CHAOQUN, *et al.* Nanozymes decorated metal-organic frameworks for enhanced photodynamic therapy. *ACS Nano*, 2018, **12(1)**: 651–661.
- [20] FU JINGKE, LI TAO, ZHU YINGCHUN, *et al.* Ultrasound-activated oxygen and ROS generation nanosystem systematically modulates tumor microenvironment and sensitizes sonodynamic therapy for hypoxic solid tumors. *Advanced Functional Materials*, 2019, **29(51)**: 1906195.
- [21] NOVIKOV ALEXANDER S, KUZNETSOV MAXIM L, POMBEIRO ARMANDO J L, *et al.* Generation of HO• radical from hydrogen peroxide catalyzed by aqua complexes of the group III metals [M(H₂O)_n]³⁺ (M=Ga, In, Sc, Y, or La): a theoretical study. *ACS Catalysis*, 2013, **3(6)**: 1195–1208.
- [22] LIN WENXIN, GONG JIANQIU, FANG LIQUAN, *et al.* A photodynamic system based on endogenous bioluminescence for *in vitro* anticancer studies. *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, 2019, **645(18/19)**: 1161–1164.
- [23] PARK JIHYE, JIANG QIN, FENG DAWEI, *et al.* Size-controlled synthesis of porphyrinic metal-organic framework and functionalization for targeted photodynamic therapy. *Journal American Chemical Society*, 2016, **138(10)**: 3518–3525.
- [24] ZHAO WEI, ZHAO YONGMEI, WANG QINGFU, *et al.* Remote light-responsive nanocarriers for controlled drug delivery: advances and perspectives. *Small*, 2019, **15(45)**: 1903060.
- [25] EISHAMI FAWZYA I, RAMADAN ABD EL-MOTALEB M, IBRAHIM MOHAMED M, *et al.* Metformin containing nickel (II) complexes: synthesis, structural characterization, binding and kinetic interactions with BSA, antibacterial and *in-vitro* cytotoxicity studies. *Applied Organometallic Chemistry*, 2020, **34(3)**: e5437.
- [26] NIU JIN, LIANG JINGJING, GAO ANG, *et al.* Micropore-confined amorphous SnO₂ subnanoclusters as robust anode materials for Na-ion capacitors. *Journal of Materials Chemistry A*, **7(38)**: 21711–21721.
- [27] ZHOU BENQING, SONG JUN, WANG MENG, *et al.* BSA-bioinspired gold nanorods loaded with immunoadjuvant for the treatment of melanoma by combined photothermal therapy and immunotherapy. *Nanoscale*, 2018, **10(46)**: 21640–21647.
- [28] LIU WEI, WANG YONGMEI, LI YUHAO, *et al.* Fluorescent imaging-guided chemotherapy-and photodynamic dual therapy with nanoscale porphyrin metal-organic framework. *Small*, 2017, **13(17)**: 1603459.
- [29] SHOME ARPITA, RATHER ADIL MAJEED, MANNA UTTAM. Chemically reactive protein nanoparticles for synthesis of a durable and deformable superhydrophobic material. *Nanoscale Advances*, 2019, **1(5)**: 1746–1753.
- [30] ZHANG YUAN, XING YANG, XIAN MING, *et al.* Folate-targeting and bovine serum albumin-gated mesoporous silica nanoparticles as a redox-responsive carrier for epirubicin release. *New Journal of Chemistry*, 2019, **43(6)**: 2694–2701.
- [31] GUO MINGZHEN, HE JIANAG, MA SHUANG, *et al.* Determination of Hg²⁺ based on the selective enhancement of peroxidase mimetic activity of hollow porous gold nanoparticles. *Nano Brief Reports and Reviews*, 2017, **12(4)**: 1750050.
- [32] FENG WEI, HAN XIUGUO, WANG RONGYAN, *et al.* Nanocatalysts-augmented and photothermal-enhanced tumor-specific sequential nanocatalytic therapy in both NIR-I and NIR-II biowindows. *Advance Material*, 2019, **31(5)**: 1805919.
- [33] ZHANG YONGHE, WANG BEILEI, ZHAO RUIBO, *et al.* Multifunctional nanoparticles as photosensitizer delivery carriers for enhanced photodynamic cancer therapy. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Application*, 2020, **115**: 111099.
- [34] HANDE GUNDYZ, SAFACAN KONLEMEN, EENGİN U AKKAYA. Singlet oxygen probes: diversity in signal generation mechanisms yields a larger color palette. *Coordination Chemistry Reviews*, 2021, **429**: 213641.
- [35] YIN SHENGYAN, SONG GUOSHENG, YANG YUE, *et al.* Persistent regulation of tumor microenvironment via circulating catalysis of MnFe₂O₄@metal-organic frameworks for enhanced photodynamic therapy. *Advanced Functional Materials*, 2019, **29(25)**: 2006853.
- [36] BAJAJ AVINASH, SAMANTA BAPPADITYA, YAN HAOHENG, *et al.* Stability, toxicity and differential cellular uptake of protein passivated-Fe₃O₄ nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 2009, **19(35)**: 6328–6331.
- [37] LIN LISEN, SONG JIBIN, SONG LIANG, *et al.* Simultaneous fenton-like ion delivery and glutathione depletion by MnO₂-based nanoagent to enhance chemodynamic therapy. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2018, **57(18)**: 4902–4906.
- [38] TARPEY MARGARRT M, FRIDOVICH IRWIN. Methods of detection of vascular reactive species nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxyxynitrite. *Circulation Research*, 2001, **89(3)**: 224.
- [39] ETHIRAJAN MANIVANNAN, CHEN YIHUI, JOSHI PENNY, *et al.* The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews*, 2011, **40(1)**: 340–362.
- [40] CHEN JIAJIE, ZHU YUFANG, KASKEL STEFAN. Porphyrin-based metal-organic frameworks for biomedical applications. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2020, **60(10)**: 5010–5035.