

# 超声辅助自组装构建多功能铁-原卟啉 纳米粒及多模态肿瘤治疗

李勇<sup>1#</sup>, 李燕<sup>3#</sup>, 杨景儿<sup>1</sup>, 王柏萍<sup>1</sup>, 尹君雅<sup>1</sup>, 耿鹏<sup>1,3</sup>, 杨扬<sup>2</sup>, 黄文权<sup>1,2</sup>

(1. 三峡大学健康医学院, 国家中医药管理局中药药理三级实验室, 宜昌 443002;

2. 桂林医科大学药学院, 广西药物分子发现与成药性优化重点实验室, 桂林 541199;

3. 三峡大学材料与化工学院, 宜昌 443002)

**摘要** 多模态协同治疗纳米材料对肿瘤精准治疗具有重要研究价值, 但其传统制备方法复杂且协同治疗效果低. 本文采用超声辅助自组装策略合成了铁-原卟啉 IX (PpIX) 配位纳米粒 (Fe-PpIX), 实现了光/声/化学动力三位一体多模态肿瘤治疗. 采用透射电子显微镜 (TEM)、X 射线光电子能谱 (XPS) 和傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 对制备的纳米粒进行了表征, 结果表明 Fe 与 PpIX 羧基有效配位. 基于荧光光谱定量分析, 发现在光和声协同处理下 Fe-PpIX 可有效产生活性氧 (ROS). 邻苯二胺/亚甲基蓝双探针检测结果表明, Fe-PpIX 可催化内源性 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 发生类 Fenton 反应生成羟基自由基, 从而触发化学动力治疗. 采用 L929 和 4T1 细胞进行了噻唑蓝 (MTT) 实验, 结果显示 Fe-PpIX 具有良好的生物相容性. 经光/声/化学协同治疗后, 4T1 肿瘤细胞的存活率显著下降 (最低 15.0%), 活/死细胞染色实验进一步证实了此结果. 所制备纳米粒有望实现高效治疗, 为理性设计多模态联合治疗的纳米粒提供了新策略.

**关键词** 自组装; 多模态协同治疗; 原卟啉 PpIX; 光动力; 声动力

中图分类号 O621 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20250176

## Ultrasonically Assisted Self-assembly of Multifunctional Iron-protoporphyrin Nanoparticles and Multimodal Tumor Therapy

LI Yong<sup>1#</sup>, LI Yan<sup>3#</sup>, YANG Jinger<sup>1</sup>, WANG Baiping<sup>1</sup>, YIN Junya<sup>1</sup>,

GENG Peng<sup>1,3\*</sup>, YANG Yang<sup>2\*</sup>, HUANG Wenquan<sup>1,2\*</sup>

(1. Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine (TCM),

College of Medicine and Health Science, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

2. Guangxi Key Laboratory of Drug Discovery and Optimization,

School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China;

3. College of Materials and Chemical Engineering, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

**Abstract** Multimodal synergistic therapeutic nanomaterials exhibit significant research value for precision tumor

收稿日期: 2025-06-25. 网络首发日期: 2025-09-05.

联系人简介: 黄文权, 男, 博士, 副教授, 主要从事药物载体的合成与修饰方面的研究. E-mail: huangwenquan@ctgu.edu.cn

杨扬, 女, 博士, 教授, 主要从事天然药物活性方面的研究. E-mail: 35112908@qq.com

耿鹏, 男, 博士, 讲师, 主要从事近红外光和超声响应纳米粒的制备和肿瘤多模式诊疗方面的研究.

E-mail: gengpeng@ctgu.edu.cn

基金项目: 广西药物分子发现与成药性优化重点实验室开放课题(批准号: GKLDDO-2024-05)、湖北省自然科学基金(批准号: 2024AFB059)和三峡大学高层次人才科研启动及平台建设经费(拔尖人才)(批准号: 8220309)资助.

Supported by the Project Program of Guangxi Key Laboratory of Drug Discovery and Optimization, China (No. GKLDDO-2024-05), the Natural Science Foundation of Hubei Province, China (No. 2024AFB059) and the Scientific Research Start-up and Platform Construction of China Three Gorges University High-level Talents (top-notch talents), China (No. 8220309).

# 共同第一作者.

therapy. However, the traditional preparation process is complex and the therapeutic efficacy of synergistic therapy remains suboptimal. In this work, an ultrasonically assisted self-assembly strategy is developed to synthesize iron-protoporphyrin IX (PpIX) coordination particle (Fe-PpIX). This approach achieves a three-in-one multimodal tumor therapy through photodynamic/sonodynamic/chemodynamic therapy. The prepared nanoparticles were characterized by the transmission electron microscope (TEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), which indicated that Fe was coordinated with PpIX by carboxyl groups. The quantitative evaluation of fluorescence spectroscopy demonstrated the efficient ROS generation of Fe-PpIX under photodynamic and sonodynamic conditions. The *o*-phenylenediamine/methylene blue dual probes further revealed that Fe-PpIX can catalyze the  $H_2O_2$ , which produces hydroxyl radicals by Fenton-like reaction. The MTT assays of L929 and 4T1 cells indicate that Fe-PpIX possesses good biocompatibility. After light/sound synergistic therapy, the survival rate of 4T1 tumor cells decreased significantly, and the survival rate decreased to the lowest (15.0%). This was further confirmed by live/dead cell staining experiments. The developed nanoparticles exhibit a valuable potential for achieving highly efficient therapy, providing a promising strategy for the rational design of multimodal therapeutic nanomaterials.

**Keywords** Self-assembly; Multimodal synergistic therapy; Protoporphyrin IX; Photodynamic; Sonodynamic

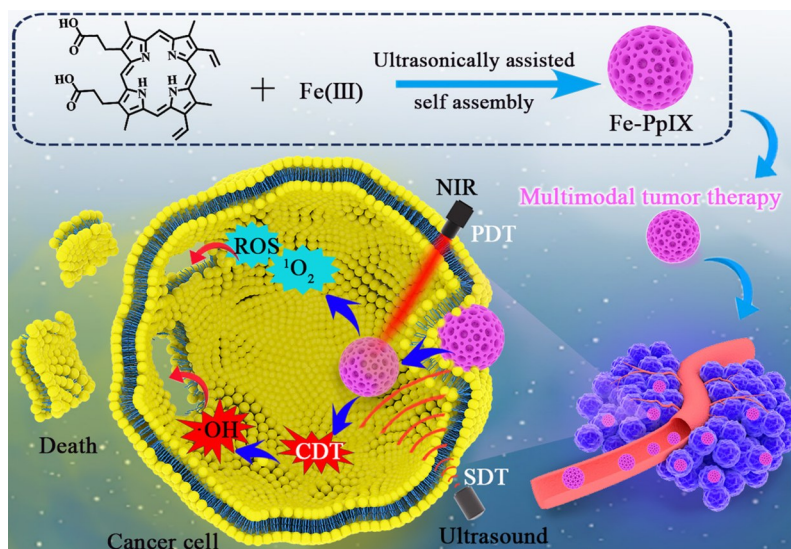
肿瘤的单一治疗手段(如手术、放疗和化疗等)容易引起耐药、复发等问题,严重限制其临床疗效<sup>[1,2]</sup>.近年来,采用活性氧(ROS)提高抗肿瘤疗效成为研究热点<sup>[3,4]</sup>.基于光动力治疗(PDT)的ROS方法可利用近红外光实现肿瘤杀伤,具有选择性高、侵入性低和全身副作用小等优点<sup>[5,6]</sup>.然而,PDT治疗深度较低,极大限制了其应用<sup>[7]</sup>.基于此,研究者开发了声动力疗法(SDT),该法通过超声(US)使声敏剂产生ROS以杀伤肿瘤细胞<sup>[8,9]</sup>.US穿透能力高,对周围正常组织影响较小,但SDT存在猝灭性高、ROS产生效率低的问题<sup>[10]</sup>.研究表明,制备同时具有PDT与SDT的多功能纳米材料可有效提高ROS的治疗效果<sup>[11,12]</sup>.然而,如何整合多种手段所产生的ROS以提高肿瘤杀伤能力,仍存在较大挑战.

金属有机框架(MOF)材料具有可调孔隙结构、丰富金属节点和光敏配体协同效应等特点,在ROS高效生成领域展现出独特优势<sup>[13,14]</sup>.如,Sun等<sup>[15]</sup>制备了AIPH@Cu-MOF纳米颗粒,在瘤内US下显著提高ROS生成,实现对原位胰腺癌高效治疗.此外,MOF可通过金属节点的类Fenton催化活性实现ROS的级联放大,为多模态联合治疗提供了新方案<sup>[16,17]</sup>.然而,如何将MOF用于PDT与SDT的抗肿瘤联合治疗仍然存在较大困难<sup>[18]</sup>.为解决此问题,寻找合适配体显得尤为重要.原卟啉IX(PpIX)是一种参与生物体内血红素合成的重要卟啉类化合物,其具有光敏剂和声敏剂的特性,有望实现PDT与SDT的联合治疗<sup>[19-21]</sup>.铁是人体必须的金属元素,具有良好的生物相容性,如果能制备Fe-PpIX基MOF,则可在光/声刺激下生成大量ROS.同时,释放的 $Fe^{3+}$ 将消耗肿瘤微环境中谷胱甘肽(GSH),进而发生类Fenton反应生成羟基自由基( $\cdot OH$ ),从而达到PDT、SDT和化学动力治疗(CDT)三位一体联合抗肿瘤目的<sup>[22,23]</sup>.然而,该纳米材料的制备依赖于传统共价自组装方法,该方法涉及到溶剂热过程,具有步骤多、高温高压及耗时长(12~24 h)的缺点,难以实现规模化制备,限制了其进一步的开发<sup>[24]</sup>.

针对传统MOF合成方法的缺陷,开发条件温和、效率高的自组装策略成为构建复杂纳米结构的关键<sup>[25]</sup>.超声波辅助自组装技术是一种基于超声辐射引发局部高温高压的方法,可加速前驱体分子活化与有序排列,为构建精准配位结构的MOF纳米材料提供了新思路<sup>[26]</sup>.在超声波空化效应驱动下, $Fe^{3+}$ 可迅速与PpIX羧基形成配位键,加速MOF的晶核生长.基于超声技术可调控分子间非共价相互作用(如配位键和 $\pi$ - $\pi$ 堆积),有望缓解聚集诱导荧光淬灭效应,为高效ROS生成提供了结构基础<sup>[27]</sup>.因此,该策略不仅有望解决传统方法中复杂步骤、高温高压和耗时等问题,还可通过动态平衡机制优化活性位点的空间分布,从而增强材料ROS生成和治疗协同性.

本文针对传统MOF合成效率与ROS生成能力低的瓶颈问题,提出一种基于超声自组装策略构建Fe-PpIX基MOF纳米材料的方法(见Scheme 1),通过多模态协同治疗实现了肿瘤细胞的精准杀伤.超声自组装策略避免了传统溶剂热法反应时间长及反应条件严苛的缺陷,PpIX分子在Fe-PpIX框架内有

序排列, 确保了其空间隔离, 有效避免了PpIX分子聚集引起的淬灭效应. 采用TEM, XPS, FTIR和荧光光谱等表征手段对所制备纳米粒进行分析, 探讨了Fe与PpIX的配位机制. 通过研究Fe-PpIX在光和超声激活下生成单线态氧( $^1O_2$ )的影响规律, 揭示了多模态治疗促进肿瘤细胞死亡的机制. 同时, 研究了 $Fe^{3+}$ 催化活性与PpIX光/声敏特性的协同作用规律, 构建了ROS生成理论模型. 本文通过多机制协同验证Fe-PpIX基MOF纳米材料在肿瘤治疗中的应用潜力, 为新型多模态协同治疗纳米粒的设计提供了理论依据.



Scheme 1 Schematic diagram of the ultrasonically assisted self-assembly of multifunctional Fe-PpIX nanoparticles and multimodal tumor therapy

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

原卟啉(PpIX)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和无水氯化铁( $FeCl_3$ ), 分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 甲醇、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、三乙胺、1,3-二苯基异苯并咪唑(DPBF)和邻苯二胺(OPD), 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司.

JSM-7500F型扫描电子显微镜(SEM), 日本JEOL公司; NANOTRAC WAVE II型纳米粒度及ZETA电位分析仪, 美国Microtrac公司; AXIS Supra型X射线光电子能谱仪(XPS), 日本岛津公司; Fourier Transform型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR), 美国PerkinElmer公司; Shimadzu UV-2600型紫外-可见分光光度计(UV-Vis), 日本Shimadzu公司; Hitachi F-4600型荧光光谱仪(PL), 日本Hitachi公司; JEOL F200型高分辨透射电子显微镜(TEM), 日本JEOL公司.

### 1.2 实验过程

1.2.1 Fe-PpIX的制备 将10 mg PpIX和50 mg PVP加入20 mL甲醇/三乙胺(体积比4:1)混合溶液中, 搅拌30 min后, 缓慢滴加20 mL含30 mg  $FeCl_3$ 的甲醇/DMF(体积比85:15)混合溶液, 超声反应6 h, 避光搅拌过夜. 反应结束后, 用乙醇/水溶液离心洗涤, 最后分散在乙醇中, 置于冰箱中保存.

1.2.2 单线态氧( $^1O_2$ )的检测 分别配制DPBF的DMF溶液(2.0 mg/mL)和Fe-PpIX的DMF溶液(40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). 在Fe-PpIX的DMF溶液中加入30  $\mu\text{L}$  DPBF溶液, 将混合溶液置于660 nm光源(100  $\text{mW}/\text{cm}^2$ )和超声仪(1.0 MHz, 1.5  $\text{W}/\text{cm}^2$ )进行6 min的光/超声激发, 测试期间每隔1 min鼓入30 s空气, 命名为Fe-PpIX+DPBF+Light和Fe-PpIX+DPBF+US. 为防止其它因素干扰, 在其它条件相同的情况下, 测试了Fe-PpIX+Light, DPBF+Light, Fe-PpIX+US和DPBF+US在410 nm处的吸光度变化.

1.2.3 羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )的检测 分别配制OPD溶液(0.6 mmol/L)、 $H_2O_2$ 溶液(3 mmol/L)和Fe-PpIX溶液(50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). 在醋酸盐缓冲液(pH=4.5)中, 于300~700 nm波长范围内对OPD+PpIX, OPD+ $H_2O_2$ ,

OPD+Fe-PpIX, OPD+PpIX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 OPD+Fe-PpIX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 进行 UV-Vis 检测. 测试了醋酸盐缓冲液 (pH=4.5) 中 Fe-PpIX, Fe-PpIX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Fe-PpIX+OPD 和 Fe-PpIX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+OPD 在 370 nm 激发下的荧光光谱. 配制 Fe-PpIX (150 μg/mL) 和 MB (10 μg/mL) 水溶液, 避光条件下搅拌 30 min, 达到吸附-脱附平衡. 将混合溶液均等分为两组, 分别记为 Fe-PpIX+MB 和 Fe-PpIX+MB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 在 Fe-PpIX+MB+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中加入 400 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 观察上述两组样品在 60 min 内 650 nm 处的吸光度变化.

1.2.4 细胞毒性试验 采用非肿瘤细胞 L929 和肿瘤细胞 4T1 对 Fe-PpIX 进行了毒性考察. 将 L929 和 4T1 细胞以每孔 5×10<sup>3</sup> 的密度接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后移除培养基. 分别加入含 25, 50, 100, 200 和 400 μg/mL Fe-PpIX 的培养基培养 24 h, 采用噻唑蓝 (MTT, 0.5 mg/mL) 法检测细胞活率. 用 4T1 细胞进行 CDT 时, 加入不同浓度的 Fe-PpIX 培养基 (含 100 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 培养 24 h 后, 再采用 MTT 法检测.

1.2.5 体外细胞光/声动力疗效 采用 4T1 细胞考察了 Fe-PpIX 的光动力/声动力治疗效果. 以每孔 5×10<sup>3</sup> 的密度将 4T1 细胞接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后移除培养基, 加入含 100 μg/mL Fe-PpIX 的培养基继续培养 4 h. 在 NIR (660 nm, 10 mW/cm) 或 US (1.0 MHz, 1.75 W/cm) 下分别处理 0, 3, 5 和 10 min, 继续培养 24 h, 采用 MTT (0.5 mg/mL) 法检测其活性.

1.2.6 活/死细胞染色 考察了 Fe-PpIX 对 4T1 细胞在光/声动力下的肿瘤细胞杀伤能力. 以每孔 1×10<sup>5</sup> 的密度将 4T1 细胞接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后移除培养基, 加入含 100 μg/mL Fe-PpIX 的培养基继续培养 4 h. 在 NIR (660 nm, 10 mW/cm) 或 US (1.0 MHz, 1.75 W/cm) 下分别处理 0, 3, 5 和 10 min, 继续培养 24 h. 采用 Calcein AM/PI 对细胞进行染色, 用荧光显微镜对细胞进行观察和拍照.

1.2.7 ROS 生成检测 采用 4T1 细胞对 Fe-PpIX 在光动力/声动力下产生 ROS 的能力进行了评估. 将 4T1 细胞以每孔 1×10<sup>5</sup> 的密度接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后移除培养基, 加入含 100 μg/mL Fe-PpIX 培养基继续培养 4 h. 分别在 NIR (660 nm, 10 mW/cm) 或 US (1.0 MHz, 1.75 W/cm) 下处理 0, 3, 5 和 10 min, 继续培养 24 h. 采用 DCFH-DA 和 DAPI 对细胞进行染色, 用荧光显微镜观察和拍照.

### 1.3 数据统计分析方法

数据以均值和标准差 (SD) 的形式呈现, 并采用 Student's *t* 检验分析不同测试组间的差异显著性. *P*<0.05 被认为具有统计学意义 (\**P*<0.05, \*\**P*<0.01).

## 2 结果与讨论

### 2.1 Fe-PpIX 的制备与表征

通过超声自组装法合成了 Fe-PpIX, 并进行了形貌表征和元素分析. TEM 照片显示, Fe-PpIX 呈球形 [图 1(A)], 粒径约 120 nm. 由元素 mapping [图 1(B)] 和 EDS 谱图 [图 1(C)] 可见, Fe-PpIX 均匀分布着 Fe, C 和 N 元素 [图 1(B)]. Fe 信号来源于铁离子, C 和 N 信号来源于有机配体 PpIX 分子, 表明 Fe-PpIX 已制备. 实验中对 Fe-PpIX 进行了元素和价态分析, XPS 主谱图 [图 1(D)] 中出现了明显的 Fe, C, N 和 O 信号峰, 图 1(E) 和 (F) 和图 S1 (见本文支持信息) 为相应的 XPS 分峰图. Fe 在 725.1 eV 的 2*p*<sub>1/2</sub> 谱峰和 719.5, 711.3 eV 的 2*p*<sub>3/2</sub> 谱峰证明了 Fe 以 Fe<sup>3+</sup> 存在 [图 1(E)], O 在 529.9 eV 的分峰说明形成了金属氧配位 [图 1(F)], 表明 Fe 与 PpIX 成功配位 [28].

为进一步探索 Fe-PpIX 的物理化学性质, 对其进行了 FTIR 光谱、UV-Vis 光谱、荧光光谱、水动力直径和 Zeta 电位测试. FTIR 光谱 [图 2(A)] 显示, Fe-PpIX 在 1705 cm<sup>-1</sup> 处的羧基峰消失, 1643 和 1417 cm<sup>-1</sup> 处出现了羧酸盐带峰, 说明 Fe 与 PpIX 的羧基配位 [29]. Fe-PpIX 和 PpIX 的 UV-Vis 谱图有相似的特征吸收峰 [图 2(B)], 均有 Soret 带 (410 nm) 和 Q 带 (505, 539, 575 和 627 nm) [30,31]. Fe-PpIX 有 4 个 Q 带峰而不是 2 个, 说明 Fe 是与 PpIX 的羧基配位而不是与中心的卟啉环配位 [32]. 图 2(C) 荧光图谱中, Fe-PpIX 在 645 nm 处的发射峰值远低于 PpIX 在 645 nm 处的发射峰, 这是由于 Fe-PpIX 存在 PpIX 向 Fe 的能量转换 [33], 进一步证明了 Fe-PpIX 已合成. 水动力直径 (本文支持信息图 S2) 测试结果表明, Fe-PpIX 直径约 250 nm, 略大于其 TEM 直径, 这主要是因为水合作用导致其在水中粒径偏大. PpIX 的 Zeta 电位为 -20.9 mV, Fe-PpIX 的 zeta 电位为 -13.0 mV, 说明负载 Fe (Fe<sup>3+</sup> 带正电) 后 Fe-PpIX 的 zeta 电

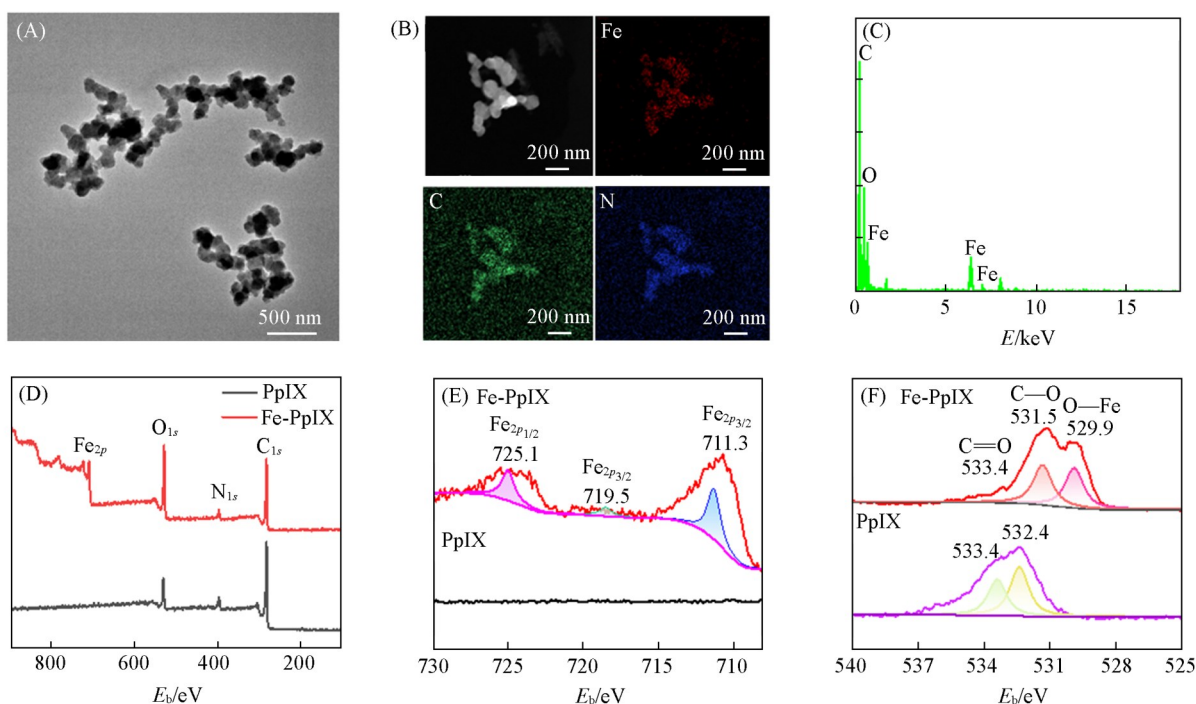


Fig. 1 TEM image(A), mapping(B), EDS spectrum(C), XPS survey spectra(D), Fe<sub>2p</sub>(E) and O<sub>1s</sub> spectra of Fe-PpIX(F)

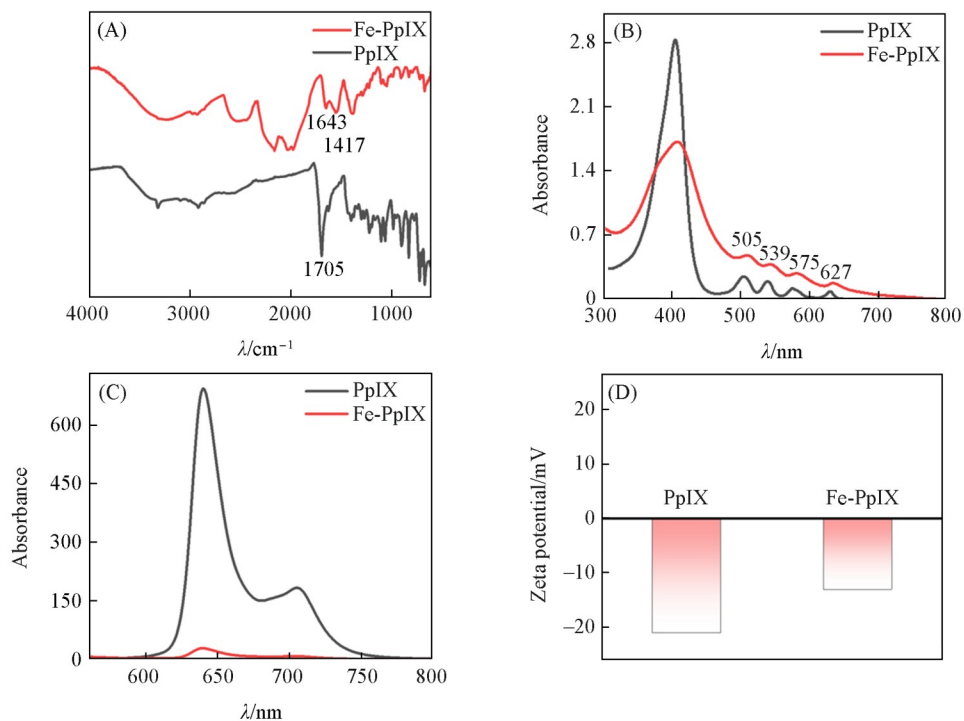


Fig. 2 Characterization results of the materials

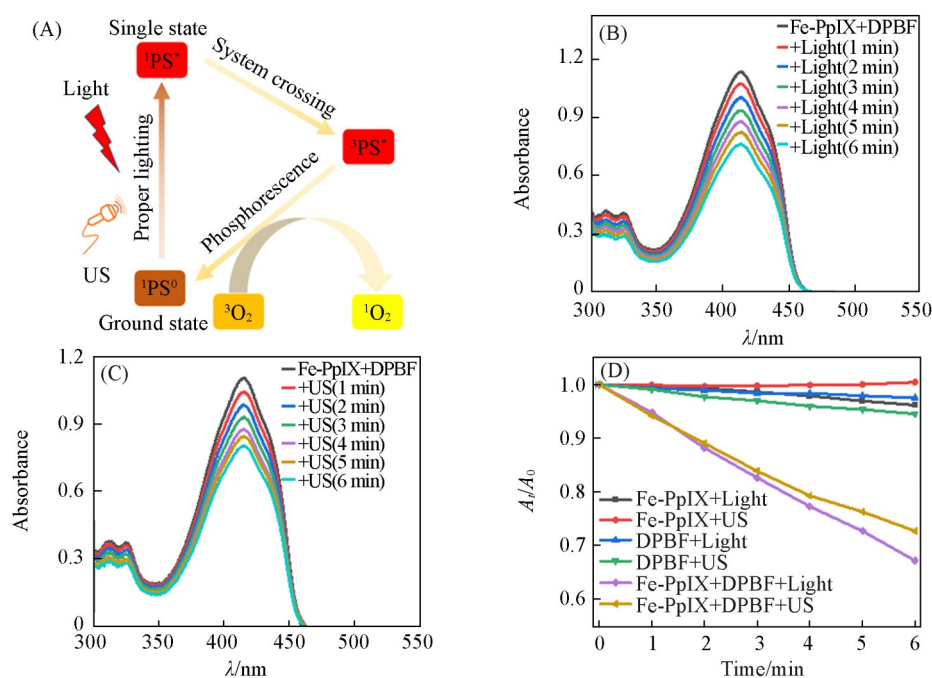
(A) FTIR spectrum; (B) UV-Vis absorption spectrum; (C) fluorescence spectrum; (D) zeta potential of PpIX and Fe-PpIX.

比PpIX的偏小[图2(D)]. 上述结果表明Fe-PpIX制备成功, 且PpIX通过羧基与Fe配位.

## 2.2 ROS和类Fenton反应检测

原卟啉既是光敏剂又是声敏剂, 可在光和超声激发下吸收能量变成激发态[图3(A)], 并通过系间穿越变成三重态, 在释放磷光同时将周围氧气转换为单线态氧(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). DPBF可与<sup>1</sup>O<sub>2</sub>发生作用, 采用DPBF可检测<sup>1</sup>O<sub>2</sub>的产生. 由图3(B)可见, 当Fe-PpIX+DPBF混合溶液被激发6 min后(660 nm,

100 mW/cm<sup>2</sup>), DPBF在410 nm的吸光度从1.13降到0.76, 6 min内降低了32.89%。由图3(C)可见, 当Fe-PpIX+DPBF混合溶液被US激发6 min后(1.0 MHz, 1.5 W/cm<sup>2</sup>), DPBF在410 nm的吸光度从1.10降到0.80, 6 min内降低了27.36%。图3(D)和图S3(见本文支持信息)显示, 在相同光照或超声处理下, 当Fe-PpIX不与DPBF混合时, Fe-PpIX+Light, Fe-PpIX+US, DPBF+Light和DPBF+US组的A<sub>t</sub>/A<sub>0</sub>值在0~6 min内的变化可忽略不计, 表明单独的Fe-PpIX[见本文支持信息图S3(A)和S3(C)]和DPBF经过Light和US处理均不会导致A<sub>t</sub>减少, 单独的Fe-PpIX或DPBF不会干扰检测。Fe-PpIX+DPBF+Light和Fe-PpIX+DPBF+US组的A<sub>t</sub>/A<sub>0</sub>值在0~6 min内逐渐变小, 说明对于该样品Light和US的处理均会生成<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, 进而导致A<sub>t</sub>变小。上述结果表明, Fe-PpIX在光或US激发下均可产生<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, 在PDT/SDT中展现出潜在的应用价值。



**Fig. 3** Schematic diagram of the <sup>1</sup>O<sub>2</sub> generation after light or US irradiation(A), absorption spectra of DPBF after reacting with Fe-PpIX under light(B) or US(C), changes in absorbance of Fe-PpIX and DPBF under different conditions(D)

(D) A<sub>0</sub>: initial absorbance; A<sub>t</sub>: the absorbance at t min.

Fe元素可通过Fenton反应将H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转化为高细胞毒性的·OH[图4(A)], 邻苯二胺(OPD)在·OH存在下可从无色变成黄色, 因此实验采用OPD来检测·OH的生成。先配制含0.6 mmol/L OPD、3 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和50 μg/mL Fe-PpIX的醋酸盐缓冲液(pH=4.5)。将样品在25 °C下孵育10 min后, 测得的紫外光谱[图4(B)]表明, OPD+Fe-PpIX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组在450 nm处出现明显的吸收峰, 说明有·OH生成。在不存在Fe-PpIX或H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>情况下, 450 nm处无明显吸收峰。实验还测试了样品的荧光光谱[图4(C)]。在25 °C的醋酸盐缓冲液(pH=4.5)中, 用含有0.6 mmol/L OPD、3 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和50 μg/mL Fe-PpIX的混合溶液孵育10 min后, OPD+Fe-PpIX+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组在545 nm处出现明显的发射峰。在不存在OPD或H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>情况下, 545 nm处无明显发射峰, 说明并无·OH生成。

以亚甲基蓝为指示剂进行了·OH检测。将含有Fe-PpIX(150 μg/mL)和MB(10 μg/mL)混合溶液避光持续搅拌30 min, 达到吸附-脱附平衡。将H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>加入到吸附-脱附平衡的混合物(Fe-PpIX+MB)中, 探究了不同条件下的类Fenton反应速率。不加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>时混合物中MB特征吸收峰无明显变化[图4(D)], 表明纯Fe-PpIX没有生成·OH的能力。但当在室温下加入H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>时, 混合物中MB特征吸收峰吸光度在60 min内从1.21下降至0.81[图4(E)], 表明Fe-PpIX在室温下可催化H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>生成·OH[图4(F)]。上述结果表明, Fe-PpIX在H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>存在下可产生·OH, 在CDT中展现出潜在的应用前景。

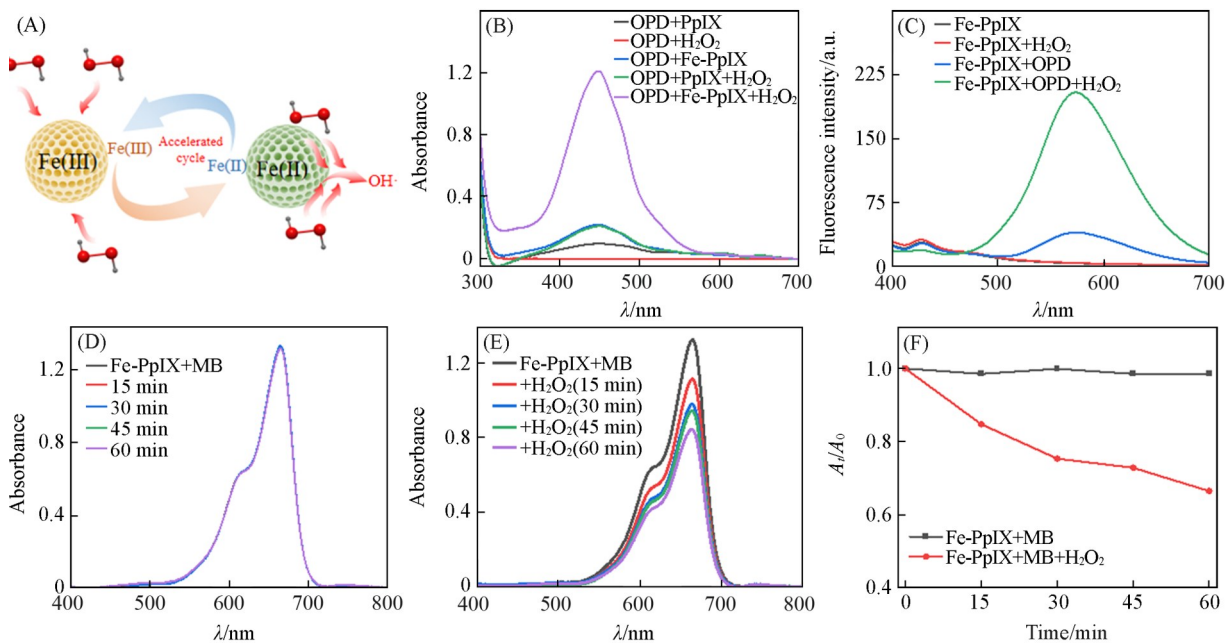


Fig. 4 Schematic illustration of the Fenton-like reaction by Fe-PpIX with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(A), UV-Vis absorption spectrum(B) and fluorescence spectrum by 370 nm excitation(C), absorption spectrum of MB mediated by Fe-PpIX(D) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(E), and degradation rate of MB for the Fenton-like reaction(F)

### 2.3 体外抗肿瘤性能

采用MTT法考察了Fe-PpIX对非肿瘤细胞(L929)和肿瘤细胞(4T1)的毒性,以评估其生物相容性.图5(A)和5(B)表明,加入Fe-PpIX孵育24 h后L929和4T1细胞均具有较高活率,说明Fe-PpIX具有较高的生物相容性.图S4(见本文支持信息)为CDT抗肿瘤细胞实验结果,表明Fe-PpIX可通过CDT实现对肿瘤的杀伤.为进一步考察Fe-PpIX抗肿瘤能力,探究了不同时间内SDT和PDT的细胞活率.图S5(见本文支持信息)表明,随着光照或超声处理时间的延长,PpIX组的细胞活率分别降低至71.8%和69.1%.Fe-PpIX组经过SDT处理10 min后,4T1细胞的活率为42.0%[图5(C)];经PDT处理10 min

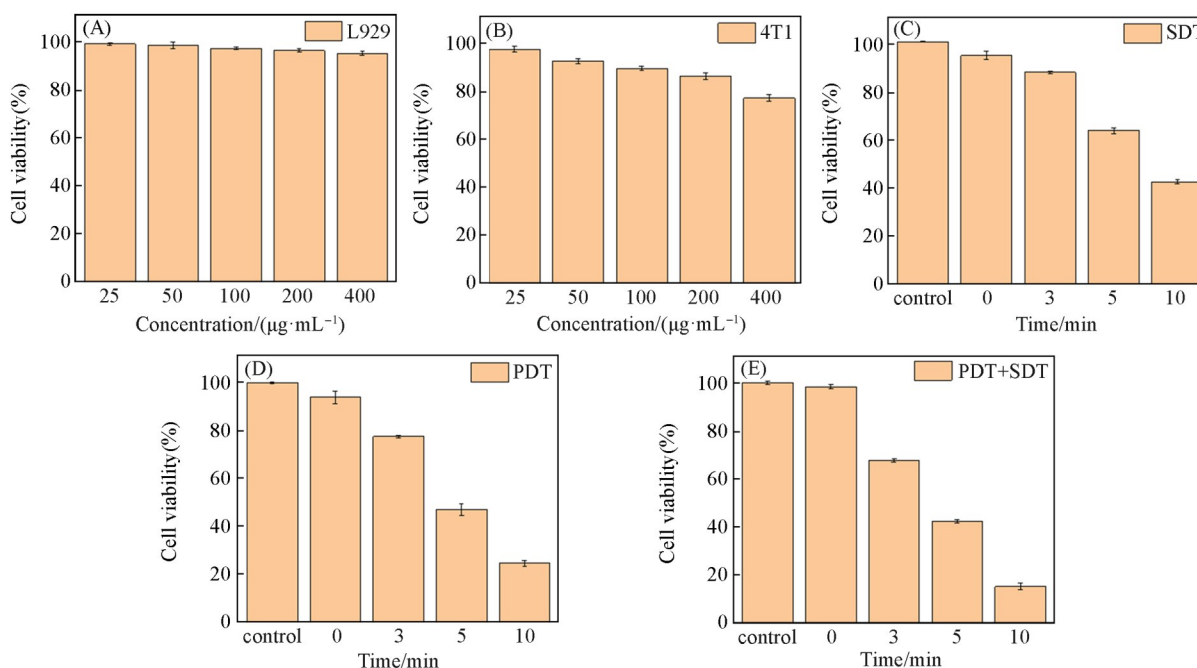


Fig. 5 Cytotoxicity assay results

(A) L929 cells; (B-E) 4T1 cytotoxicity with different Fe-PpIX concentrations(B) and different action times(C-E); (C) SDT; (D) PDT; (E) SDT+PDT.

后, 细胞活率为 24.6% [图 5(D)], 说明 Fe-PpIX 组 SDT 和 PDT 均可产生 ROS, 实现对肿瘤细胞的杀伤. 当同时进行 PDT 和 SDT 处理 10 min 后, 细胞活率最低, 仅为 15.0% [图 5(E)]. 由此可见, Fe-PpIX 可实现光/声动力联合治疗.

为直观评估 Fe-PpIX 的治疗效果, 采用 Calcein AM/PI 探针进行了活/死细胞染色. 图 6 中 Control 和 Fe-PpIX 组呈现绿色荧光信号, 表明细胞活性较高. 分别对细胞进行 Fe-PpIX+PDT 和 Fe-PpIX+SDT 处理, 可观察到红色荧光增多, 绿色荧光减少, 证明细胞活性降低. 对细胞进行 Fe-PpIX+PDT+SDT 处理后, 红色荧光明显增加, 表明联合治疗下死细胞增加, 细胞活性受到显著抑制. 这与细胞毒性实验结果 (图 5) 一致, 表明 Fe-PpIX 的 PDT 与 SDT 联合治疗可显著增强抗肿瘤效果.

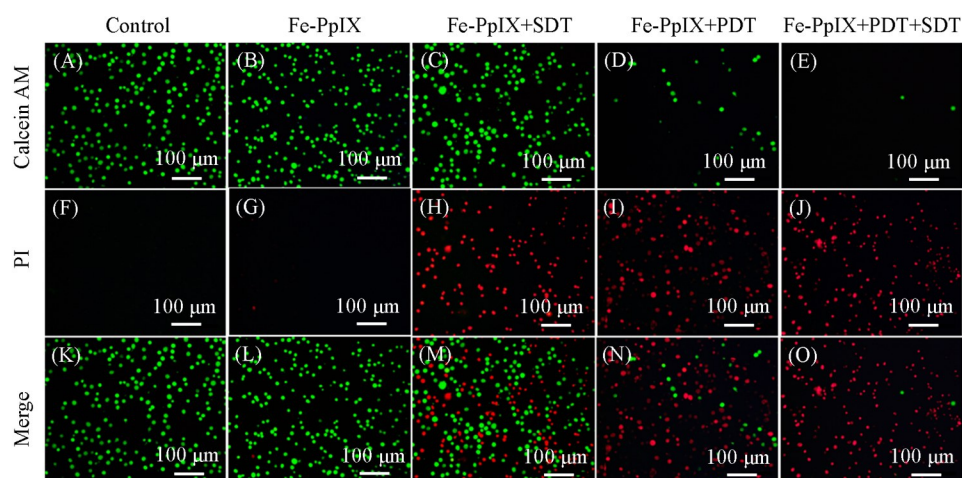


Fig. 6 Results of live dead cells staining after different treatments

实验考察了 Fe-PpIX 的 ROS 生成能力. 采用 DCFH-DA 荧光探针对细胞进行染色, 并用荧光显微镜进行拍照. 由图 7 可见, 经过 SDT (1.0 MHz, 10 min) 和 PDT (10 mW/cm<sup>2</sup>, 10 min) 处理后, 均可生成 ROS. 当同时进行 PDT 和 SDT 处理时, 生成的 ROS 最多, 说明 Fe-PpIX 可实现多模态协同治疗作用, 进一步抑制肿瘤增殖.

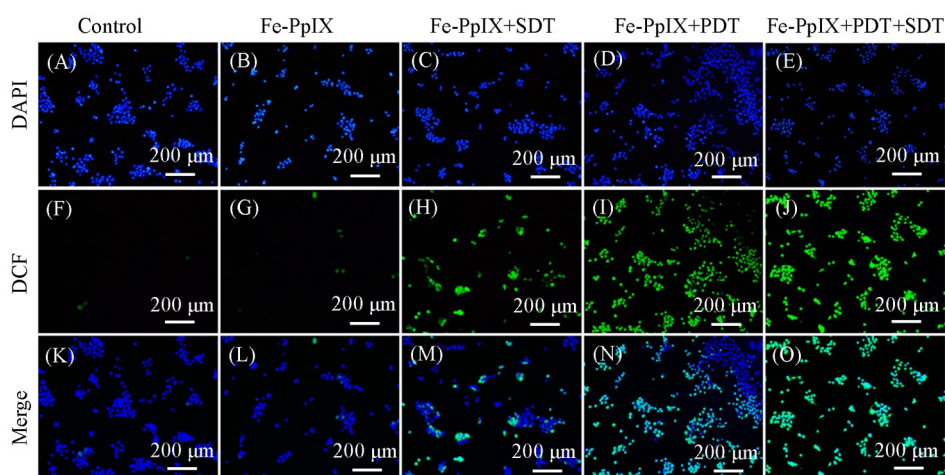


Fig. 7 ROS generation after different treatments

### 3 结 论

通过超声辅助自组装法构建了多功能纳米颗粒 Fe-PpIX, 实现光/声/化学动力三位一体多模态肿瘤治疗. 采用多种表征技术证明了多功能纳米粒的制备, 并验证了 Fe 与 PpIX 羧基的配位作用. Fe-PpIX 中 Fe 离子可通过类 Fenton 反应将肿瘤微环境中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 转化为 ·OH, 实现化学动力学治疗效果. 通过体

外 MTT 和活/死细胞实验,发现在光照或超声处理下 Fe-PpIX 可高效产生  $^1\text{O}_2$ ,从而提高对肿瘤细胞的杀伤.细胞实验结果表明,Fe-PpIX 对 L929 正常细胞和 4T1 肿瘤细胞均表现出良好的生物相容性.采用 DCFH-DA 荧光探针研究了 ROS 的生成,发现 Fe-PpIX 在经过光照或超声处理后,能在肿瘤微环境下产生大量 ROS,有效杀死肿瘤细胞.本文采用超声自组装构建 Fe-PpIX 纳米颗粒,实现了光/声/化学动力学的联合治疗,为开发肿瘤多模态多功能纳米粒提供了新思路.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/20250176>.

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Gong Z., Cheng C., Sun C. N., Cheng X. L., *J. Exp. Clin. Canc. Res.*, **2025**, *44*(1), 138
- [ 2 ] Cao M. Y., Xing X. E., Shen X. T., Ouyang J., Na N., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, *40*(2), 202—212
- [ 3 ] Guo Q. Y., Tang Y. N., Wang S. M., Xia X. H., *Redox Biol.*, **2025**, *80*, 103515
- [ 4 ] An X. Q., Yu W. F., Liu J. B., Tang D. L., Yang L., Chen X., *Cell Death Dis.*, **2024**, *15*(8), 556
- [ 5 ] Li G. Y., Wang C., Jin B. H., Sun T., Sun K., Wang S., Fan Z., *Cell Death Discov.*, **2024**, *10*(1), 466
- [ 6 ] Cui X., Li X., Peng C., Qiu Y. H., Shi Y., Liu Y. M., Fei J. F., *ACS Nano*, **2023**, *17*(21), 20776—20803
- [ 7 ] Sun B. W., Rahmat J. N. B., Zhang Y., *Biomaterials*, **2022**, *291*, 121875
- [ 8 ] Li Y. J., Chen W., Kang Y., Zhen X. Y., Zhou Z. M., Liu C., Chen S. Y., Huang X. A., Liu H. J., Koo S., Kong N., Ji X. Y., Xie T., Tao W., *Nat. Commun.*, **2023**, *14*(1), 6973
- [ 9 ] Pang E., Tang Y. Y., Zhao S. J., Cheng Q., Wang C., Chen J. M., Lan M. H., *Chem. J. Chinese Universities*, **2025**, *46*(6), 20240489 (庞娥,唐垣钰,赵少静,程强,王晨,陈健敏,蓝敏焕.高等学校化学学报.2025,46(6),20240489)
- [ 10 ] Wen S. W., Zhang W. Y., Yang J. L., Zhou Z. J., Xiang Q., Dong H. F., *ACS Nano*, **2024**, *18*(34), 23672—23683
- [ 11 ] Wang L., Liu Y. Y., Sun J., Su J. J., Feng J., Miao L., Zhao W. J., Zhang H. J., Liu K., *ACS Nano*, **2025**, *19*(29), 26791—26804
- [ 12 ] Zheng N. N., Hu X., Yan L., Ding L. Y., Feng J., Li D., Ji T., Ai F. J., Yu K., Hu J. Q., *Nano Lett.*, **2024**, *24*(20), 6165—6173
- [ 13 ] Guo W., Wang Y. M., Zhang K., Dai X. G., Qiao Z. Z., Liu Z. W., Yu B. R., Zhao N. A., Xu F. J., *Chem. Mater.*, **2023**, *35*(17), 6853—6864
- [ 14 ] Tajwar M. A., Ali N., Zhang X. R., Jabeen R., Liu Y. T., Shangguan D. H., Qi L., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2024**, *40*(6), 1290—1297
- [ 15 ] Sun Y., Cao J., Wang X., Zhang C., Luo J. L., Zeng Y. Q., Zhang C., Li Q. Y., Zhang Y., Xu W., Zhang T., Huang P. T., *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **2021**, *13*(32), 38114—38126
- [ 16 ] Zheng H. J., Lin H. M., Ke Y., Ma Y. W., Ge S. F., Yang F., Ruan J., Jia R. B., *Adv. Healthc. Mater.*, **2025**, *14*(14), 2501339
- [ 17 ] Li Y. F., Han S. C., Zhao Y., Yan J. Q., Luo K., Li F. S., He B., Sun Y., Li F., Liang Y., *Small*, **2024**, *21*(5), 2404299
- [ 18 ] Xu P. J., Wen C. C., Gao C. J., Liu H. H., Li Y. S., Guo X. L., Shen X. C., Liang H., *ACS Nano*, **2023**, *18*(1), 713—727
- [ 19 ] Dibona-Villanueva L., Fuentealba D., *J. Agric. Food Chem.*, **2022**, *70*(30), 9276—9282
- [ 20 ] Li X., He G., Jin H., Xiang X. Y., Li D., Peng R. M., Tao J., Li X. P., Wang K. Y., Luo Y., Liu X. A., *Adv. Sci.*, **2024**, *12*(5), 2407609
- [ 21 ] Shan H. R., Wang X. Q., Wei Q. H., Dai H. L., Chen X. F., *Photonics Res.*, **2024**, *12*(5), 1024—1035
- [ 22 ] Gao H. Y., Cao Z. P., Liu H. H., Chen L. J., Bai Y., Wu Q. X., Yu X., Wei W., Wang M. Y., *Theranostics*, **2023**, *13*(6), 1974—2014
- [ 23 ] He K., Ding B. B., Ma P. A., Lin J., *Chem. J. Chinese Universities*, **2025**, *46*(1), 20230525(何扩,丁彬彬,马平安,林君.高等学校化学学报,2025,46(1),20230525)
- [ 24 ] Vaitis C., Sourkouni G., Argiris C., *Ultrason. Sonochem.*, **2019**, *52*, 106—119
- [ 25 ] Zhang Q., Yan S. G., Yan X. T., Lv Y., *Sci. Total Environ.*, **2023**, *902*, 165944
- [ 26 ] Ogura Y., Taniya K., Horie T., Tung K. L., Nishiyama S., Komoda Y., Ohmura N., *Ultrason. Sonochem.*, **2023**, *96*, 106443
- [ 27 ] Sun H., Li L. K., Guo R. H., Wang Z., Guo Y. H., Li Z. L., Song F. L., *Chem. Sci.*, **2024**, *15*(3), 940—952
- [ 28 ] Ma D., Huang X., Zhang Y., Wang L., Wang B., *Nano Res.*, **2023**, *16*(5), 7906—7925
- [ 29 ] Papageorgiou S. K., Kouvelos E. P., Favvas E. P., Sapalidis A. A., Romanos G. E., Katsaros F. K., *Carbohydr. Res.*, **2010**, *345*(4), 469—473
- [ 30 ] Harada Y., Murayama Y., Takamatsu T., Otsuji E., Tanaka H., *Int. J. Mol. Sci.*, **2022**, *23*(12), 6478
- [ 31 ] Yan L., Miller J., Yuan M., Liu J. F., Busch T. M., Tsourkas A., Cheng Z. L., *Biomacromolecules*, **2017**, *18*(6), 1836—1844
- [ 32 ] Bark K. M., Yang J. I., Lee H. S., Lee J. B., Park C. H., Park H. R., *B. Korean Chem. Soc.*, **2010**, *31*(6), 1633—1637
- [ 33 ] Moscoso F. G., Rodriguez-Albelo L. M., Ruiz-Salvador A. R., Lopes-Costa T., Pedrosa J. M., *Mater. Today Chem.*, **2023**, *28*, 101366

(Ed.: L, V, K)