# Fe掺杂CuS纳米颗粒的合成及其在光热/ 化学动力学联合治疗中的应用

孙博!赵宁!徐欣!姜来!陆峰\*.!范曲立\*.!黄维1.2

('南京邮电大学信息材料与纳米技术研究院,有机电子与信息显示国家重点实验室,南京 210023) ('西北工业大学柔性电子研究院,西安 710072)

**摘要:** 以乙酰丙酮铜和硫粉为铜源和硫源,在油酸(OA)-油胺(OM)-十八烯(ODE)体系中合成了近红外吸收的硫化铜(CuS)纳米颗粒,并通过改变硫元素活化状态的方式调节其吸收峰到适合光热治疗的1064 nm附近。通过阳离子交换法进一步制备了Fe、Mn等元素掺杂的CuS纳米颗粒,并保持其吸收峰位置几乎不变。使用微乳法进行聚乙二醇(PEG)化修饰后,这些纳米颗粒在水溶液中表现出良好的分散性和稳定性。分别测试了CuS纳米颗粒在Fe<sup>3+</sup>掺杂前后的光热性能及羟基自由基(·OH)生成能力。结果表明,PEG修饰后Fe<sup>3+</sup>掺杂的CuS纳米颗粒(CuS:Fe-PEG)在1064 nm处的质量消光系数为37.5 L·g<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>,光热转换效率可达43.7%。虽然光热性能略低于未掺杂的CuS-PEG,但其·OH生成能力有大幅提升。细胞实验也表明,在弱酸性条件下,CuS:Fe-PEG具有更好的肿瘤细胞抑制能力,在1064 nm激光照射下能够有效杀死肿瘤细胞,可用于光热/化学动力学联合治疗。

关键词:硫化铜;阳离子交换;光热治疗;芬顿反应 中图分类号:0614.121 文献标识码:A 文章编号:1001-4861(2023)04-0671-09 DOI:10.11862/CJIC.2023.026

# Synthesis of Fe-doped CuS nanoparticles for the combination of photothermal and chemodynamic therapy

SUN Bo<sup>1</sup> ZHAO Ning<sup>1</sup> XU Xin<sup>1</sup> JIANG Lai<sup>1</sup> LU Feng<sup>\*,1</sup> FAN Qu-Li<sup>\*,1</sup> HUANG Wei<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory for Organic Electronics and Information Displays, Institute of Advanced Materials, Nanjing University of Posts & Telecommunications, Nanjing 210023, China)
(<sup>2</sup>Institute of Flexible Electronics, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

**Abstract:** Copper sulfide (CuS) nanoparticles with strong absorption in the near-infrared region were synthesized in oleic acid (OA)-oleylamine (OM)-octadecene (ODE) system using copper acetylacetonate and sulfur powder as copper and sulfur sources respectively. By adjusting the activation solvent for the sulfur powder, the absorption peak can be tuned to around 1 064 nm which was beneficial for photothermal therapy. The Fe and Mn elements doped CuS nanoparticles were further prepared by the cation exchange approach, and the absorption peak can be retained after the reaction. Then, these hydrophobic nanoparticles were transferred into an aqueous solution by the micro-emulsion method, the obtained PEGylated (PEG=poly(ethylene glycol)) nanoparticles exhibited excellent dispersity and colloidal stability. Their photothermal performance and the hydroxyl radical (•OH) production before and after Fe<sup>3+</sup>-doping were investigated thereafter. The mass extinction coefficient of Fe<sup>3+</sup>-doped CuS nanoparticles after PEGylation (CuS: Fe-PEG) at 1 064 nm was 37.5 L·g<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>, with a high photothermal conversion efficiency of around 43.7%. Although these values were slightly decreased compared with undoped CuS-PEG, their ability to pro-

国家自然科学基金(No.21975131)和南京邮电大学引进人才科研启动基金(No.NY221130)资助。

收稿日期:2022-10-12。收修改稿日期:2023-02-10。

<sup>\*</sup>通信联系人。E-mail:iamflu@njupt.edu.cn,iamqlfan@njupt.edu.cn

duce •OH was significantly improved. A higher inhibition ratio of cancer cells was observed with CuS: Fe-PEG nanoparticles under weak acid condition. And under 1 064 nm laser, these nanoparticles can kill cancer cells more effectively. Therefore, the prepared CuS: Fe-PEG nanoparticles can be used for the combination of photothermal and chemodynamic therapy.

Keywords: CuS; cation exchange; photothermal therapy; Fenton reaction

# 0 引 言

光热治疗(PTT)利用外部光源将光能转化为热 能,通过局部加热的方式杀死病灶组织细胞,具有 非侵袭、时空可控、治疗时间短、对健康组织损失小 等优点,在肿瘤治疗等领域受到了广泛的关注。 自从 Hirsch 等四使用金纳米球壳实现了近红外 PTT 以来,金纳米材料、碳材料、半导体聚合物、金属硫 化物、小分子染料等多种材料均被应用于 PTT<sup>[3]</sup>。 近年来,随着近红外二区(NIR-Ⅱ,1000~1700 nm) 技术的研究和发展<sup>14</sup>,PTT的研究也从近红外一区 (NIR-Ⅰ, 700~900 nm)转向 NIR-Ⅱ。 NIR-Ⅱ的 PTT 具有更深的组织穿透深度和更高的激光最大允许 照射强度(1064 nm下为1W·cm<sup>-2</sup>, 而808 nm下仅为 0.33 W·cm<sup>-2</sup>),从而展示出更加优秀的治疗效果<sup>[5]</sup>。 硫化铜(CuS)基纳米颗粒是最早应用于 NIR-Ⅱ的 PTT的材料之一<sup>60</sup>,其近红外吸收来自于高载流子浓 度带来的表面等离子体共振<sup>11</sup>,具有极高的吸光系 数,并且主要通过非辐射衰减来转换吸收的光能, 能够产生高的光热转换效率,是一种很有前景的光 热材料[8]。

另一方面,近年来诊疗一体化在生物医学领域 受到了广泛的关注<sup>[9]</sup>。这些强吸光的材料本身也可 用于光声成像辅助疾病诊断,但是光声成像在解剖 学分辨率和穿透深度方面存在一定的不足,因此研 究人员将Gd<sup>3+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>等具有磁共振成像能力的 离子借助牛血清白蛋白(BSA)、二乙撑三胺五乙酸 (DTPA)等配位到CuS表面,从而实现多模态成像指 导的PTT<sup>[10-14]</sup>。然而,单纯的PTT在肿瘤复发及穿透 深度方面仍有一定的不足,需要结合其他治疗方式 从而获得更加理想的疗效<sup>[15]</sup>。恰好Fe、Mn等金属离 子可以通过芬顿或类芬顿反应将低毒性的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转 化为高毒性的羟基自由基(•OH)<sup>116]</sup>,用于肿瘤或者炎 症的治疗且没有穿透深度的限制,这一过程被称为 化学动力学治疗(CDT)<sup>117]</sup>。尽管Cu也可以用于 CDT,但是CuS的溶度积(K<sub>ap</sub>)较小,不易释放出金属 离子,因此表面螯合的Fe、Mn等金属离子有助于提 高材料的CDT能力。尽管这种螯合的方式为CuS的 多功能化提供了很多的便利,但是也带来了稳定性 差、体内易解离等问题。所以,也有课题组制备了 Cu<sub>s</sub>FeS<sub>4</sub>及CuFeS<sub>2</sub>等纳米材料来解决这一问题<sup>[18-19]</sup>。 但是,这些结构严重影响了CuS的表面等离子体共 振强度,使得材料的吸光能力明显下降,进行PTT所 需的剂量明显提高,可能造成一定的毒副作用。

阳离子交换策略是合成多组分金属硫化物并 同时保持其晶体结构与形貌的一种有效方法,在金 属硫化物纳米结构的合成中扮演了重要的角色<sup>[20]</sup>。 近年来CdS-Cu<sub>1.8</sub>S、ZnS-Cu<sub>1.8</sub>S、CoS-Cu<sub>1.8</sub>S等具有异质 结构的纳米颗粒、纳米棒及纳米片均已成功合 成<sup>[21-23]</sup>。因此,这种阳离子交换策略可用于特定金 属离子在CuS表面的掺杂。在CuS表面掺杂Fe、Mn 等元素将赋予纳米颗粒磁共振成像及CDT能力,同 时还能保持CuS纳米材料的近红外吸收和较高的结 构稳定性,然而目前在相关方面仍未见报道。

我们首先通过调节硫元素活化溶剂的方式,将 所得CuS纳米颗粒的吸收峰移动至1064 nm附近, 使其可用于NIR-Ⅱ的PTT。接着研究了Fe<sup>3+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、 Mn<sup>3+</sup>、Mn<sup>2+</sup>及Gd<sup>3+</sup>等具有特定功能的金属离子与CuS 纳米颗粒的阳离子交换反应,发现Fe3+、Fe2+、Mn2+离 子能够被成功掺入CuS纳米颗粒中并保持原有吸收 峰位置几乎不变。我们详细对比了Fe<sup>3+</sup>掺杂前后 CuS纳米颗粒在光热及化学动力学性能方面的区 别。Fe<sup>3+</sup>掺杂的CuS纳米颗粒(CuS:Fe-PEG)的质量 消光系数为37.5 L·g<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>,光热转换效率可达 43.7%,略低于未掺杂的CuS-PEG,但是其·OH生成 能力远高于未掺杂的CuS-PEG。细胞实验表明,在 酸性条件下CuS:Fe-PEG能够较好地抑制肿瘤细胞 生长。再结合1064 nm激光,CuS:Fe-PEG能够有效 杀死肿瘤细胞,与未掺杂的CuS-PEG相比具有更好 的治疗效果,可用于PTT和CDT的联合治疗。另 外,Fe<sup>3+</sup>掺杂的CuS也具有光声及磁共振成像能力, 在肿瘤的诊疗中具有良好的应用潜力。

第4期

# 1 实验部分

### 1.1 实验材料

乙酰丙酮铜(Cu(acac)<sub>2</sub>)、乙酰丙酮铁(Fe(acac)<sub>3</sub>)、 乙酰丙酮亚铁(Fe(acac)<sub>2</sub>)、乙酰丙酮锰(II)(Mn(acac)<sub>2</sub>)、 油胺(OM)等购于上海阿拉丁试剂。硫粉、乙醇、氯 仿、二硫化碳购于南京化学试剂厂。油酸(OA)、1-十 八烯(ODE)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)购于西 格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich)。磷脂化聚乙二醇 (DSPE-PEG, M<sub>w</sub>=5 000)从上海芃硕生物科技购买。

#### 1.2 样品表征

吸收光谱使用岛津公司的UV-3600紫外可见近 红外分光光度计进行测试;样品形貌通过日立 HT7700透射电子显微镜(TEM)进行表征,加速电压 为100 kV;样品的结构通过布鲁克D8 ADVANCE X 射线衍射仪(XRD)进行分析,Cu Kα射线(波长 0.154 nm)为射线源,工作电压40 kV,工作电流40 mA,扫 描速度2(°)·min<sup>-1</sup>,扫描范围20°~80°;元素含量通过 配置了 X射线能谱仪(EDS)的日立 S4800场发射扫 描电子显微镜进行表征,加速电压为20 kV;X射线 光电子能谱(XPS)通过岛津公司的AXIS SUPRA<sup>+</sup>进 行表征;光热性能通过菲利尔E50红外热像仪进行 测试。

### 1.3 CuS纳米颗粒的合成

将 64 mg 硫粉分散于 5 mL OA 和 5 mL ODE 的 混合溶液中,在氮气保护下加热至 125  $\mbox{C}$ ,充分溶解 后降温至 55  $\mbox{C}$ 。将 65.5 mg乙酰丙酮铜在 55  $\mbox{C}$ 下溶 于 5 mL OM 和 10 mL ODE 中。取 5 mL S溶液加入 到乙酰丙酮铜溶液中,在氮气保护下升温至 120  $\mbox{C}$ , 并维持反应 1 h。冷却后产物用乙醇沉降,离心收集 样品,用氯仿/乙醇、二硫化碳/乙醇和乙醇分别洗涤 沉淀后,将产物分散在 7 mL氯仿中得到 CuS 纳米颗 粒。

# 1.4 Fe、Mn掺杂CuS纳米颗粒的合成

将上述洗涤过的 CuS 沉淀超声分散在 5 mL ODE 中。将 0.05 mmol 乙酰丙酮盐在 55 ℃下溶于 5 mL OM 和 10 mL ODE 中,完全溶解后加入 CuS 的 ODE 溶液。在氮气保护下,将混合溶液升温至 120 ℃并保持 30 min,加入乙醇沉降并离心洗涤后, 将样品分散于 7 mL氯仿中得到掺杂的 CuS 纳米颗 粒。使用的乙酰丙酮盐包括乙酰丙酮铁、乙酰丙酮 亚铁、乙酰丙酮锰(II)、乙酰丙酮锰(II)和乙酰丙酮钆。 其中,铁(III)掺杂的 CuS 记为 CuS:Fe。

### 1.5 纳米颗粒的聚乙二醇(PEG)修饰

将 35 mg DSPE-PEG 充分溶解于4 mL去离子水 中,将 0.5 mL纳米颗粒(CuS 或 CuS:Fe)的氯仿溶液 滴加到 DSPE-PEG 的水溶液中,超声后得到微乳液。 在 60 ℃水浴中蒸发掉氯仿,使用针头过滤器(400 nm)过滤除去沉淀并超滤纯化后得到澄清透明的 PEG 化纳米颗粒水溶液(CuS-PEG、CuS:Fe-PEG)。

#### 1.6 光热性能测试

配制不同浓度(10、20、35、50 μg·mL<sup>-1</sup>)的 CuS-PEG和CuS:Fe-PEG纳米颗粒溶液,使用1064 nm 激光器作为激发光源(功率密度为1W·cm<sup>-2</sup>)照射10 min,通过红外热像仪读取溶液温度。另外,分别测 试激光功率密度为0.33、0.56、0.83和1W·cm<sup>-2</sup>时样 品的升温曲线。

#### 1.7 化学动力学效果测试

使用3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)比色法测定CuS-PEG及CuS:Fe-PEG纳米颗粒的·OH生成能力。首先,将纳米颗粒(10  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>)分散在pH=5.5的磷酸盐缓冲液中(0.01 mol·L<sup>-1</sup>,2 mL),然后加入TMB(0.4 mmol·L<sup>-1</sup>)和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 mmol·L<sup>-1</sup>),分别在反应0、1、20、30 min时测试溶液的吸收光谱。

# 1.8 细胞活性检测

选用 HeLa 细胞作为受试细胞,采用噻唑蓝 (MTT)法评估了中性和弱酸性条件下材料对肿瘤细 胞的抑制效果。在96孔板中加入 HeLa 细胞(每孔 10 000 个细胞)并在培养箱中孵育过夜。将 CuS-PEG及 CuS: Fe-PEG 纳米颗粒用中性(pH=7.2)或弱 酸性(pH=5.5)缓冲液稀释成不同的浓度(0、25、50、 75、100 μg·mL<sup>-1</sup>)后,加入到96孔板中。对于弱酸性 样品,再加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(0.1 mmol·L<sup>-1</sup>)模拟肿瘤微环境。 孵育 3 h后,使用1 064 nm激光(1 W·cm<sup>-2</sup>)照射 5 min 并继续孵育 4 h,然后加入 MTT测试细胞活性。

# 2 结果与讨论

#### 2.1 CuS纳米颗粒吸收波长的调节

硫粉在不同溶剂中活化后,会产生不同的含硫 活性中间体(图 S1, Supporting information),从而表现 出不同的反应活性,使产物的光学性质发生一定的 改变<sup>[24]</sup>。这里分别以OA、ODE、OM及OA/ODE混合 溶剂为硫元素的活化溶剂,制备了4种不同的CuS 纳米颗粒,样品的形貌和吸收光谱如图1所示。硫 粉溶于OA时,制得的CuS吸收峰约在970 nm,与文 献报道一致<sup>[25]</sup>。以ODE和OM为活化溶剂时,吸收



图1 硫粉溶于OA (a)、ODE (b)、OM (c)及OA/ODE 混合溶剂 (d)所制得的CuS纳米颗粒的TEM 图;相应材料的吸收 光谱图 (e);不同反应温度 (f)和反应时间 (g)下制得的CuS纳米颗粒的吸收光谱

Fig.1 TEM images of CuS nanoparticles prepared with sulfide source dissolved in OA (a), ODE (b), OM (c), and OA/ODE mixed-solvent (d); Corresponding absorption spectra of the obtained CuS nanoparticles (e); Absorption spectra of CuS nanoparticles prepared under different reaction temperatures (f) and reaction times (g)

峰红移至1200 nm。由此推测使用混合溶剂活化硫粉,能够实现其吸收峰在一定范围内的调节。当使用OA/ODE混合溶剂(1:1)时,制得的CuS吸收峰恰好位于1060 nm,与1064 nm激光器良好匹配,可用于NIR-II的PTT。此时,所得材料呈颗粒状,粒径约为12 nm,适用于各类生物医学应用。

另外,我们对该体系的反应温度和反应时间也 进行了一定的优化。在铜源和硫源混合后,分别在 55~140℃下反应,所得样品的吸收光谱如图 1f 所 示。在120℃下所得 CuS 纳米颗粒吸收强度最高, 为最佳反应温度。当体系温度达到 120℃后,继续 加热可使得样品吸光度逐渐上升,在1h时达到最 高,而后几乎保持不变。因此,选取反应温度 120℃、反应时间1h为最佳合成条件。

#### 2.2 CuS纳米颗粒的掺杂

为了进一步提高所得 CuS 材料在诊疗方面的性能,我们尝试通过阳离子交换法对其进行掺杂。主要尝试了 Fe<sup>3+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>3+</sup>、Mn<sup>2+</sup>及 Gd<sup>3+</sup>等具有 CDT 或磁共振成像能力的金属离子的乙酰丙酮盐,并通过EDS 测试产物的元素组成。结果表明,Fe<sup>3+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>离子能够通过阳离子交换反应掺杂到 CuS 中(图 2、S2),其他金属离子则不行,这可能与不同金属

离子与硫离子的结合能力不同有关。通过TEM对3 种掺杂CuS纳米颗粒进行表征(图2b、S2c、S2d),这 些纳米材料尺寸较均一,分散性良好。值得注意的 是,经过离子交换反应,这些材料的吸收光谱较原 CuS变化不大(图S2e),说明这些材料保留了CuS的 NIR-II的PTT的能力。

由于+3价铁相对稳定,我们选择Fe<sup>3+</sup>掺杂的硫 化铜(CuS:Fe)进行后续的分析和应用。EDS测试(图 2d)显示产物中Fe与Cu的原子比为1:6.17,略低于 投料比1:5,表明离子交换反应只能部分进行。 XRD图(图2c)说明Fe离子掺杂前后样品的晶体结 构没有明显变化,均与靛铜矿CuS的标准卡片(PDF No.03-1090)匹配良好。Ding等报道CuS与乙酰丙酮 铁在260℃下反应会得到CuFeS,<sup>[19]</sup>,而我们在较低 温度下反应未观察到CuFeS2的生成。XPS结果(图 S3)验证了样品中Cu、S、Fe元素的存在,且各元素的 比例与EDS数据(图 2d)吻合。Fe2p、Fe3s和Fe3p的 结合能与文献中Fe<sup>3+</sup>的结合能一致<sup>[26]</sup>,因此我们认 为Fe元素仍以+3价的状态存在。Fe<sup>3+</sup>的掺杂比例 也能够通过改变乙酰丙酮铁的投加量进行调节(图 S4),但是过高的掺杂比例会使产物的近红外吸光能 力下降且样品易沉淀。







# 2.3 CuS:Fe的水溶性修饰

为了实现CuS纳米材料的生物医学应用,采用两亲性的DSPE-PEG包裹的方式对CuS以及CuS:Fe进行了水溶性修饰(图2a)。在表面改性之后,CuS-PEG以及CuS:Fe-PEG能够很好地分散在水溶液中,具体表征如图3所示。它们的水合直径分别为36.5和44.1 nm,虽然有一定的团聚但是粒径仍在合适的范围之内。这些纳米颗粒在水中能够保持NIR-II的吸收,且具有良好的分散性和稳定性,放置一周后吸光度下降幅度小于4%(图3f)。

# 2.4 CuS: Fe-PEG的光热性能

CuS-PEG 在 1 064 nm 处的消光系数为 38.4 L· g<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>, CuS: Fe-PEG 在 1 064 nm 处的消光系数为 37.5 L·g<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>, 数值高于大多数光热试剂(表 S1), 这有助于提高光热效果。接着使用红外热像仪监 测了纳米颗粒在1064 nm 激光照射下的温度变化 (图 4)。浓度仅 10 µg·mL<sup>-1</sup>的 CuS-PEG 和 CuS: Fe-PEG 经过1064 nm 激光器(1 W·cm<sup>-2</sup>)照射 10 min 后温度可升至49.3 和48.2 ℃,达到有效杀死癌细胞 的温度(48~49 ℃)。随着样品浓度的增加,所能达到 的温度明显升高,当样品浓度为50 µg·mL<sup>-1</sup>时,最终 温度分别可达78.1 和75.5 ℃。从图 4c 和 4g 可以看 出,当浓度一定时,光热效果也会随着激光功率的 增大而提升。

这些材料也表现出优秀的光热稳定性,如图S5 所示,浓度为50 μg·mL<sup>-1</sup>的纳米颗粒经过1064 nm 激光(0.83 W·cm<sup>-2</sup>)连续4个光热升温/降温循环,每 次都能升温至几乎相同温度。利用降温曲线计算 材料的光热转换效率<sup>[27]</sup>,CuS-PEG的光热转换效率 高达45.2%,在Fe<sup>3+</sup>掺杂后有所下降,但仍可达



图 3 CuS-PEG 的 TEM 图 (a)、水合粒径分布 (b)及稳定性 (c); CuS:Fe-PEG 的 TEM 图 (d)、水合粒径分布 (e)及稳定性 (f) Fig.3 TEM image (a), hydrodynamic diameter distribution (b), and stability (b) of CuS-PEG; TEM image (d), hydrodynamic diameter distribution (e), and stability (f) of CuS:Fe-PEG



 $\theta = (T - T_0)/(T_{max} - T_0)$ , where T is the temperature of the solution,  $T_0$  is the temperature of the surrounding environment, and  $T_{max}$  is the temperature of the solution after laser irradiation

- 图4 CuS-PEG (a)和CuS:Fe-PEG (e)在激光照射后的热成像图;不同浓度CuS-PEG (b)和CuS:Fe-PEG (f)在激光照射下的 升温曲线;CuS-PEG (c)和CuS:Fe-PEG (g)在不同功率激光照射下的升温曲线;CuS-PEG (d)和CuS:Fe-PEG (h)降温 曲线中时间与-ln θ的线性拟合曲线
- Fig.4 Thermal images of CuS-PEG (a) and CuS:Fe-PEG (e) under 1 064 nm laser irradiation; Temperature increase of CuS-PEG (b) and CuS:Fe-PEG (f) with different concentrations under laser irradiation; Temperature increase of CuS-PEG (c) and CuS:Fe-PEG (g) under different laser power densities; Linear fitting curve of time versus -ln θ obtained from the cooling period for CuS-PEG (d) and CuS:Fe-PEG (h) after laser irradiation

43.7%(图 4d、4h)。如表 S1 所示, CuS-PEG 及 CuS: Fe-PEG 在 NIR-Ⅱ 的吸光系数和光热转换效率均 高于大多数 NIR-Ⅲ 光热试剂, 都是高效的 PTT 试剂。

### 2.5 CuS:Fe-PEG的化学动力学性能

肿瘤内高表达的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以通过芬顿或类芬顿 反应被Fe、Cu、Mn等金属离子转化为高细胞毒性 的·OH,造成DNA损伤或蛋白失活,从而杀死肿瘤 细胞<sup>[28]</sup>。这里以TMB为指示剂<sup>[29]</sup>,考察CuS纳米颗 粒在掺杂前后的·OH生成能力。如图5所示,加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>后混合溶液在650和900 nm 处的吸收逐渐升 高,表明TMB的氧化和·OH的生成。值得注意的 是,CuS:Fe-PEG在650和900 nm的吸光度提升明显高于CuS-PEG,表明Fe的掺杂能够显著提升CuS的·OH生成能力,这种差异使得CuS:Fe-PEG更加适合于肿瘤的CDT。



图 5 CuS-PEG (a)和CuS:Fe-PEG (b)在与TMB和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>孵育后的吸收光谱图; (c) 孵育后相应样品在650 nm处的吸光度变化 Fig.5 Absorption spectra of CuS-PEG (a) and CuS:Fe-PEG (b) after incubated with TMB and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; (c) Change of the absorbance at 650 nm of corresponding samples after incubation

## 2.6 CuS:Fe-PEG的联合治疗效果

在HeLa细胞中加入一定量的CuS-PEG和CuS: Fe-PEG后,分别进行了光照和不光照的4组对照实验。如图6a所示,在不光照的情况下,细胞活性随CuS-PEG和CuS:Fe-PEG浓度的增加而略微降低,但仍能保持在90%以上,证明这2种材料较好的生物相容性。在1064 nm激光的照射下,这2种材料表现出明显的细胞抑制能力,表明其优秀的NIR-II的PTT能力。在这种正常的孵育条件下,可以看出2种材料对肿瘤细胞的抑制作用没有显著的差异。通常情况下,肿瘤微环境中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度可达0.1~1 mmol·L<sup>-1[30]</sup>,且呈弱酸性,这些条件都有助于CDT。 接下来我们在 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和弱酸性的孵育条 件下,重新评价了这 2种材料的肿瘤细胞抑制能力 (图 6b)。首先,我们确认了该孵育条件本身对细胞 活性的影响很小,如图 S6 所示。在这种模拟肿瘤微 环境的条件下,CuS:Fe-PEG 展现出比 CuS-PEG 更好 的肿瘤细胞抑制效果,这种差异随着材料浓度的增 加而更加明显。1064 nm激光照射后的细胞活性均 大幅下降,相比于 CuS-PEG 纳米颗粒,CuS:Fe-PEG 处理过的细胞活性更低,说明其更好的联合治疗效 果。综上,CuS:Fe-PEG 在肿瘤微环境中,具有更好 的抗肿瘤效果,这一现象有利于降低材料对正常组 织的损伤,提高肿瘤治疗的特异性。







# 3 结 论

通过调节硫元素活化溶剂的方式,成功制备了 具有近红外吸收的CuS纳米颗粒,并进一步通过阳 离子交换反应获得了Fe、Mn等元素掺杂的CuS纳米 离子。PEG修饰之后,Fe<sup>3+</sup>掺杂的CuS纳米颗粒在水 溶液中展现出良好的分散性和稳定性,同时保留了 优秀的吸光能力和光热转换效率,可用于光热治 疗。CuS:Fe-PEG也表现出显著提升的·OH生成能力,可用于肿瘤的CDT。因此,该材料是一种高效的肿瘤光热/化学动力学联合治疗试剂。另外,强的近红外吸收和铁离子的掺杂也使该纳米颗粒具有了光声及磁共振成像的能力,在肿瘤的诊疗中具有良好的应用潜力。

Supporting information is available at http://www.wjhxxb.cn

# 参考文献:

- [1]Li X S, Lovell J F, Yoon J, Chen X Y. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2020,17(11):657-674
- [2]Hirsch L R, Stafford R J, Bankson J A, Sershen S R, Rivera B, Price R E, Hazle J D, Halas N J, West J L. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2003,100(23):13549-13554
- [3]Mu J, Xiao M, Shi Y, Geng X W, Li H, Yin Y X, Chen X Y. The chemistry of organic contrast agents in the NIR- II window. Angew. Chem. Int. Ed., 2022,61(14):202114722
- [4]Lu F, Li L L, Zhao T, Ding B Q, Liu J W, Wang Q, Xie C, Fan Q L, Huang W. Fabrication of semiconducting polymer - blend dots with strong near-infrared fluorescence and afterglow luminescence for bioimaging. *Dyes Pigm.*, 2022,200:110124
- [5]Jiang Y Y, Li J C, Zhen X, Xie C, Pu K Y. Dual-peak absorbing semiconducting copolymer nanoparticles for first and second near-infrared window photothermal therapy: A comparative study. *Adv. Mater.*, 2018,30(14):1705980
- [6]Zhou M, Ku G, Pageon L, Li C. Theranostic probe for simultaneous in vivo photoacoustic imaging and confined photothermolysis by pulsed laser at 1 064 nm in 4T1 breast cancer model. Nanoscale, 2014,6(24): 15228-15235
- [7]Zhao Y X, Pan H C, Lou Y B, Qiu X F, Zhu J J, Burda C. Plasmonic Cu<sub>2-x</sub>S nanocrystals: Optical and structural properties of copperdeficient copper(I) sulfides. J. Am. Chem. Soc., 2009, 131(12):4253-4261
- [8]Kershaw S V, Susha A S, Rogach A L. Narrow bandgap colloidal metal chalcogenide quantum dots: Synthetic methods, heterostructures, assemblies, electronic and infrared optical properties. *Chem. Soc. Rev.*, 2013,42(7):3033-3087
- [9]陈庆涛,石向东,梁娓娓,姜利英,方少明,陈凤华.荧光/MRI双模 态靶向成像诊疗试剂的制备. 无机化学学报, 2021,37(9):1555-1562
  - CHEN Q T, SHI X D, LIANG W W, JIANG L Y, FANG S M, CHEN F H. Synthesis of fluorescence/MRI dual targeted imaging theranostics reagent. *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2021**,37(9):1555-1562
- [10]Yang W T, Guo W S, Le W J, Lv G X, Zhang F H, Shi L, Wang X L, Wang J, Wang S, Chang J, Zhang B B. Albumin-bioinspired Gd:CuS

nanotheranostic agent for *in vivo* photoacoustic/magnetic resonance imaging-guided tumor-targeted photothermal therapy. *ACS Nano*, **2016,10**(11):10245-10257

报

- [11]Gao D Y, Sheng Z H, Liu Y B, Hu D H, Zhang J, Zhang X J, Zheng H R, Yuan Z. Protein-modified CuS nanotriangles: A potential multimodal nanoplatform for *in vivo* tumor photoacoustic/magnetic resonance dual-modal imaging. *Adv. Healthc. Mater.*, 2017,6(1):1601094
- [12]Zhang S H, Zha Z B, Yue X L, Liang X L, Dai Z F. Gadoliniumchelate functionalized copper sulphide as a nanotheranostic agent for MR imaging and photothermal destruction of cancer cells. *Chem. Commun.*, 2013,49(60):6776-6778
- [13]Wang Z J, Yu W J, Yu N, Li X, Feng Y R, Geng P, Wen M, Li M Q, Zhang H J, Chen Z G. Construction of CuS@Fe-MOF nanoplatforms for MRI-guided synergistic photothermal-chemo therapy of tumors. *Chem. Eng. J.*, 2020,400:125877
- [14]Liu R F, Jing L J, Peng D, Li Y, Tian J, Dai Z F. Manganese (II) chelate functionalized copper sulfide nanoparticles for efficient magnetic resonance/photoacoustic dual-modal imaging guided photothermal therapy. *Theranostics*, 2015,5(10):1144-1153
- [15]Lu F, Sang R Y, Tang Y, Xia H, Liu J W, Huang W, Fan Q L, Wang Q. Fabrication of a phototheranostic nanoplatform for single laser-triggered NIR- II fluorescence imaging-guided photothermal/chemo/antiangiogenic combination therapy. Acta Biomater., 2022, 151:528-536
- [16]Tang Z M, Zhao P R, Wang H, Liu Y Y, Bu W B. Biomedicine meets Fenton chemistry. *Chem. Rev.*, 2021,121(4):1981-2019
- [17]Shi Y H, Yin J J, Peng Q Q, Lv X Y, Li Q Z, Yang D L, Song X J, Wang W J, Dong X C. An acidity-responsive polyoxometalate with inflammatory retention for NIR- II photothermal-enhanced chemodynamic antibacterial therapy. *Biomater. Sci.*, **2020**,8(21):6093-6099
- [18]Wang Z J, Wang Y, Guo H H, Yu N, Ren Q, Jiang Q, Xia J D, Peng C, Zhang H J, Chen Z G. Synthesis of one-for-all type Cu<sub>5</sub>FeS<sub>4</sub> nanocrystals with improved near infrared photothermal and Fenton effects for simultaneous imaging and therapy of tumor. *J. Colloid Interface Sci.*, 2021,592:116-126
- [19]Ding B B, Yu C, Li C X, Deng X R, Ding J X, Cheng Z Y, Xing B G, Ma P A, Lin J. cis-platinum pro-drug-attached CuFeS<sub>2</sub> nanoplates for in vivo photothermal/photoacoustic imaging and chemotherapy/photothermal therapy of cancer. Nanoscale, 2017.9(43):16937-16949
- [20]Piao Z Y, Yang D, Cui Z J, He H Y, Mei S L, Lu H X, Fu Z Z, Wang L, Zhang W L, Guo R Q. Recent advances in metal chalcogenide quantum dots: From material design to biomedical applications. *Adv. Funct. Mater.*, 2022:2207662
- [21]Fenton J L, Steimle B C, Schaak R E. Tunable intraparticle frameworks for creating complex heterostructured nanoparticle libraries. *Science*, 2018,360(6388):513-517
- [22]Li Z Z, Saruyama M, Asaka T, Tatetsu Y, Teranishi T. Determinants of crystal structure transformation of ionic nanocrystals in cation exchange reactions. *Science*, **2021**,373(6552):332-337
- [23]Huang X J, Deng G Y, Han Y, Yang G Z, Zou R J, Zhang Z Y, Sun S Y, Hu J Q. Right Cu<sub>2-x</sub>S@MnS core-shell nanoparticles as a photo/

H2O2-responsive platform for effective cancer theranostics. Adv. Sci., 2019,6(20):1901461

- [24]Li Z, Ji Y J, Xie R G, Grisham S Y, Peng X G. Correlation of CdS nanocrystal formation with elemental sulfur activation and its implication in synthetic development. J. Am. Chem. Soc., 2011, 133(43): 17248-17256
- [25]Lu F, Wang J F, Tao C, Zhu J J. Highly monodisperse beta-cyclodextrincovellite nanoparticles for efficient photothermal and chemotherapy. Nanoscale Horiz., 2018,3(5):538-544
- [26]Yamashita T, Hayes P. Analysis of XPS spectra of Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> ions in oxide materials. Appl. Surf. Sci., 2008,254(8):2441-2449
- [27]Hessel C M, Pattani V P, Rasch M, Panthani M G, Koo B, Tunnell J W, Korgel B A. Copper selenide nanocrystals for photothermal therapy.

Nano Lett., 2011,11(6):2560-2566

- [28]Wang Y D, Gao F C, Li X F, Niu G M, Yang Y F, Li H, Jiang Y Y. Tumor microenvironment-responsive fenton nanocatalysts for intensified anticancer treatment. J. Nanobiotechnol., 2022,20(1):69
- [29]Gong F, Cheng L, Yang N L, Betzer O, Feng L Z, Zhou Q, Li Y Y, Chen R H, Popovtzer R, Liu Z. Ultrasmall oxygen-deficient bimetallic oxide MnWO<sub>x</sub> nanoparticles for depletion of endogenous GSH and enhanced sonodynamic cancer therapy. Adv. Mater., 2019, 31 (23):1900730
- [30]Kim J, Cho H R, Jeon H, Kim D, Song C, Lee N, Choi S H, Hyeon T. Continuous  $\mathrm{O_2}\text{-}\mathrm{evolving}\;\mathrm{MnFe_2O_4}$  nanoparticle-anchored mesoporous silica nanoparticles for efficient photodynamic therapy in hypoxic cancer. J. Am. Chem. Soc., 2017,139(32):10992-10995