·实验研究·

载阿霉素的槲皮素金属配合物靶向纳米粒的制备与表征

陈琳婉[1],汪周丽[2],陈伟军[2],邱立朋[2*],王东凯[1*]
(1 沈阳药科大学药学院,沈阳 110016; 2 江南大学生命科学与健康工程学院,无锡 214122)

[摘要] **目的**:制备载阿霉素的槲皮素金属配合物靶向递送系统,并考察其制剂学性质与抗肿瘤能力。**方法**:以槲皮素为配体,通过调节锰铜摩尔比制备并筛选出最优双金属配合物载体,进一步调节阿霉素的投药量,筛选出最佳包封率和载药量的载药纳米粒,通过硫酸软骨素修饰制备靶向药物递送系统。对纳米粒进行颗粒粒径、Zeta 电位、红外光谱、紫外光谱等理化性质表征;考察其体外释药行为、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)分解能力、活性氧(reactive oxygen species,ROS)产生能力、血液相容性等;通过 3T3 和 B16F10 细胞系考察其安全性与抗肿瘤活性。**结果**:本研究筛选出锰铜比为 2∶1 时合成的空白载体具有最佳抗肿瘤活性;当阿霉素投药量为 0.05 mmol·L^{-1}时制备的纳米递送系统具有最佳载药量和包封率,靶向药物递送系统分别为(15.89 ± 0.34)%和(90.21 ± 0.45)%;最终经 30% 的硫酸软骨素修饰后制备靶向药物递送系统。各种表征表明本研究成功制备了双金属配合物靶向药物递送系统,粒径适宜且具有较高包封率和载药量。该递送系统在含 GSH(10 mmol·L^{-1})的 pH 5.0 条件下表现出较好的释药情况,具有良好的 GSH 分解能力、ROS 产生能力、血液相容性、细胞相容性和肿瘤细胞毒性。**结论**:本研究通过筛选金属比例、筛选投药量和修饰硫酸软骨素制备得到载阿霉素金属配合物的靶向药物递送系统,载药量高,具有良好的释药行为,这种使用槲皮素金属配合物与阿霉素的治疗策略通过化疗和化学动力学疗法协同抗肿瘤,可为协同促进抗肿瘤疗效提供新思路。

[关键词] 槲皮素;阿霉素;金属配合物;硫酸软骨素;抗肿瘤
[中图分类号] R943 [文献标志码] A [文章编号] 1003 - 3734(2026)11 - 1188 - 12

Preparation and characterization of doxorubicin-loaded quercetin metal complex targeting nanoparticles

CHEN Lin-wan[1], WANG Zhou-li[2], CHEN Wei-jun[2], QIU Li-peng[2*], WANG Dong-kai[1*]
(1 *School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang* 110016, *China*; 2 *School of Life Sciences and Health Engineering, Jiangnan University, Wuxi* 214122, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To prepare a targeted delivery system of quercetin metal complex loaded with doxorubicin and to investigate its pharmaceutical properties and anti-tumor capability. **Methods**: With quercetin as the ligand, the optimal bimetallic complex carrier was prepared and screened by adjusting the molar ratios of manganese to copper, and the drug-loaded nanoparticles with the best encapsulation efficiency and drug loading were screened by further adjusting the dosage of doxorubicin. Finally, the targeted drug delivery system was prepared by chondroitin sulfate modification. The physicochemical properties of the nanoparticles such as particle size, Zeta potential, infrared spectrum and ultraviolet spectrum, were characterized. Then, the *in vitro* drug release behavior, glutathione (GSH) degradation capability, reactive oxygen species (ROS) production capability and blood compatibility were investigated. Finally, the safety and anti-tumor activity were investigated using 3T3 and B16F10 cell lines. **Results**: The blank carrier synthesized at the optimal manganese-copper ratio of 2∶1 exhibited

[作者简介] 陈琳婉,女,硕士研究生,主要从事药物新剂型与新技术研究。E-mail:331413618@qq.com。
[通讯作者] *邱立朋,男,副教授,硕士生导师,主要从事新型药物递送系统研究。E-mail:qiulp@jiangnan.edu.cn。*王东凯,男,教授,博士生导师,主要从事药物缓控释制剂技术和纳米给药系统研究。E-mail:wangdksyphu@126.com。
[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.11.010

the best anti-tumor activity. When the dosage of doxorubicin was 0.05 mmol·L^{-1}, the prepared nano-delivery system had the best drug loading and encapsulation efficiency, which were (15.89 ± 0.34)% and (90.21 ± 0.45)%, respectively. A targeted drug delivery system was then prepared after modification with 30% chondroitin sulfate. Various characterizations confirmed the successful preparation of the bimetallic complex targeted drug delivery system, with suitable particle size and high encapsulation efficiency and drug loading. The delivery system showed good drug release under pH 5.0 condition containing 10 mmol·L^{-1} GSH, and exhibited favorable GSH degradation capability, ROS production capability, blood compatibility, cytocompatibility, and tumor cytotoxicity. **Conclusion**: In this study, a targeted drug delivery system loaded with doxorubicin metal complexes was successfully prepared by screening the metal ratio and doxorubicin dosage, followed by chondroitin sulfate modification. The system achieved high drug loading and favorable drug release behavior. This therapeutic strategy using quercetin metal complexes and doxorubicin exerts synergistic anti-tumor effects through combined chemotherapy and chemodynamic therapy, which may provide new ideas for enhancing synergistic anti-tumor efficacy.

[**Key words**] quercetin; doxorubicin; metal complex; chondroitin sulfate; anti-tumor

阿霉素(doxorubicin,DOX)作为一种广谱抗肿瘤药物,在临床治疗中展现出显著疗效,被广泛应用于淋巴瘤、乳腺癌、卵巢癌、黑色素瘤等多种恶性肿瘤的治疗中[1],强大的抗肿瘤活性使其成为肿瘤治疗领域的重要药物之一。然而,尽管 DOX 具有显著的抗肿瘤效果,但其在临床应用中伴随着一系列不良反应,包括非特异性靶向以及心脏毒性[2],这限制了 DOX 的临床应用。

随着纳米技术的发展,纳米递送系统为 DOX 的精准递送提供了新的选择。纳米递送系统具有靶向性[3]、控释性[4]等优点,能够将药物准确输送至肿瘤组织,减少对正常组织的损害,从而降低不良反应。金属配合物纳米递送系统因其独特的化学性质和多样的作用机制,在抗肿瘤领域广泛应用。金属配合物是指由金属或金属簇和配体通过配位键结合形成的化合物[5],抗肿瘤活性主要源于其与生物分子的相互作用,例如:某些金属(钌、铜等)配合物可催化活性氧(reactive oxygen species,ROS)生成以破坏肿瘤细胞氧化还原平衡[6]。金属配合物与化疗药物联合使用可以提高药物的抗肿瘤活性并降低毒性,如 Chen 等[7]以 Fe(Ⅲ)-聚多巴胺为壳构建金属配合物和化疗药物顺铂联合应用的抗肿瘤策略。此外,Mn^{2+}、Fe^{2+}、Cu^{2+}等金属离子在酸性的肿瘤微环境中能够发生芬顿或类芬顿反应,催化 H_2O_2 转化为具有细胞毒性的羟基自由基(·OH),从而实现化学动力学疗法,对肿瘤细胞产生更强的杀伤作用[8]。目前金属配合物载体在黑色素瘤治疗领域的研究进展聚焦于靶向递送和协同治疗机制创新等,广东药科大学开发的 IrC 配合物靶向黑色素瘤细胞内质网,诱导免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death,ICD),逆转“冷肿瘤”为“热肿瘤”,显著增强程序性死亡蛋白-1(programmed cell death protein-1,PD-1)抗体疗效[9]。第四军医大学西京医院团队将铜离子载体双硫仑(disulfiram,DSF)联合 BRAF 抑制剂通过 TXNIP-TRX2 通路诱导线粒体氧化损伤,逆转 BRAF 抑制剂耐药性,显著抑制耐药黑色素瘤生长[10]。然而,金属配合物在应用过程中也面临某些问题,如配体较差的生物相容性和非活性等,限制了金属配合物的临床应用。

值得注意的是,槲皮素(quercetin, Que)作为一种广泛存在于植物中的黄酮类化合物,具有良好的生物相容性,Zhang 等[11]开发了 Q@MPDA 生物黏附性介孔聚多巴胺包裹的黄酮类化合物 Que 用于免疫代谢干预治疗牙周炎,即使在高剂量下也不会引起显著的细胞毒性。此外,Que 具有多种生物活性,包括抗氧化、抗炎和抗肿瘤等[12]。Que 与金属离子形成的配合物展现出更强的抑制多种肿瘤细胞增殖的作用(如槲皮素-铁[13]、槲皮素-铜[14]),这些配合物不仅具有独特的化学结构和生物活性,而且能够通过多种机制发挥抗肿瘤作用,如抑制 DNA 复制和修复[15]、诱导细胞凋亡[16]、破坏肿瘤血管生成[17]等。但 Que 水溶性较差,导致其生物利用度较低[18]。此外,目前针对槲皮素-双金属配合物递送系统的抗肿瘤研究较少,这主要由于双金属配合物的构建具有一定挑战性。然而,双金属配合物在抗肿瘤药物研发中作为潜力巨大的领域,核心思想是“协同增效”,即通过精心设计使 2 个金属中心共同作用,产生“1 + 1 > 2”的效果。双金属配合物主要通过协同效应实现多靶点攻击,能同时整合 2 种金属中心的特性,引发 DNA 损伤、产生 ROS、消耗清除

ROS 的还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)及抑制酶活性等多种机制,从而显著增强抗肿瘤效果。这种多机制作用方式能有效克服肿瘤耐药性[19]。此外,双核结构可实现更强的 DNA 交联,造成更致命的损伤。

因此,本文设计了 Que 与金属锰铜的配合物作为载体,负载化疗药物 DOX,并在纳米粒表面修饰硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)提高靶向性。CS 因其硫酸化结构域特异性结合肿瘤部位过表达的 CD44 受体而实现主动靶向,并在低 pH 微环境中响应降解释放药物。通过化疗、化学动力学疗法及其之间潜在的协同作用,发挥抗肿瘤作用。

材　　料

1　试剂

槲皮素[萨恩化学技术(上海)有限公司,批号:DA6REH9H];乙酸锰(批号:20161220)、乙酸铜(批号:P3517227)、*N*,*N*-二甲基甲酰胺(*N*,*N*-dimethylformamide,DMF,批号:P8223199)、聚乙烯吡咯烷酮-K30(polyvinyl pyrrolidone,PVP,批号:20241016)均购自国药集团化学试剂有限公司;阿霉素盐酸盐(上海泰坦科技股份有限公司,批号:P3348271);硫酸软骨素 A 钠盐(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:D2407066)。

2　仪器

AX224ZH/E 型电子天平(奥豪斯仪器有限公司);KQ5200DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);B13－3 型智能恒温定时磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);Centrifuge 5804R 型离心机(德国 Eppendorf 公司);Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司);UV－2550 型紫外可见分光光度计(日本岛津仪器有限公司);FreeZone 冷冻干燥机(美国 Labconco 公司);NEXUS 傅里叶红外光谱仪(美国尼高力仪器公司);ZQZY－70AS 型振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司);JY92－IIN 型超声细胞破碎仪(宁波新芝生物科技有限公司);SpectraMax M2 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);su1510 型扫描电子显微镜(日本日立公司)。

方法与结果

1　金属配合物载体的制备

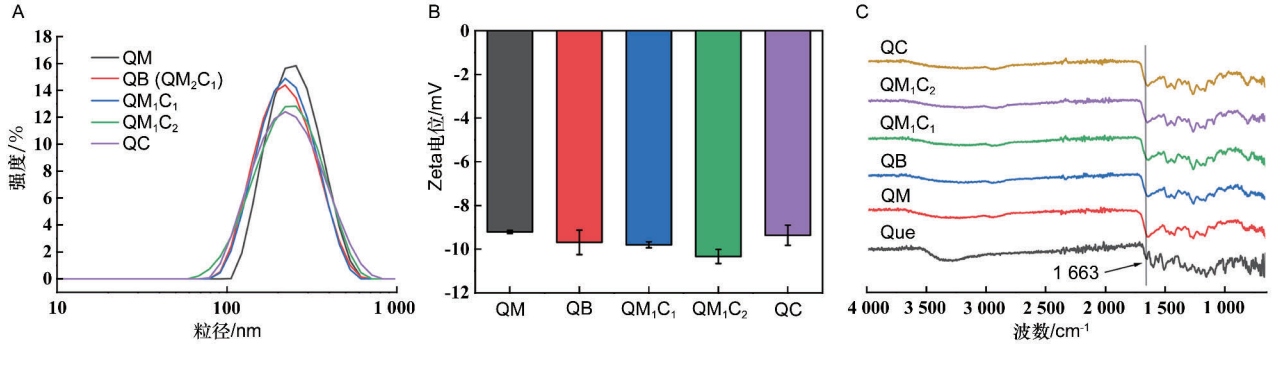
1.1　金属配合物载体的制备方法

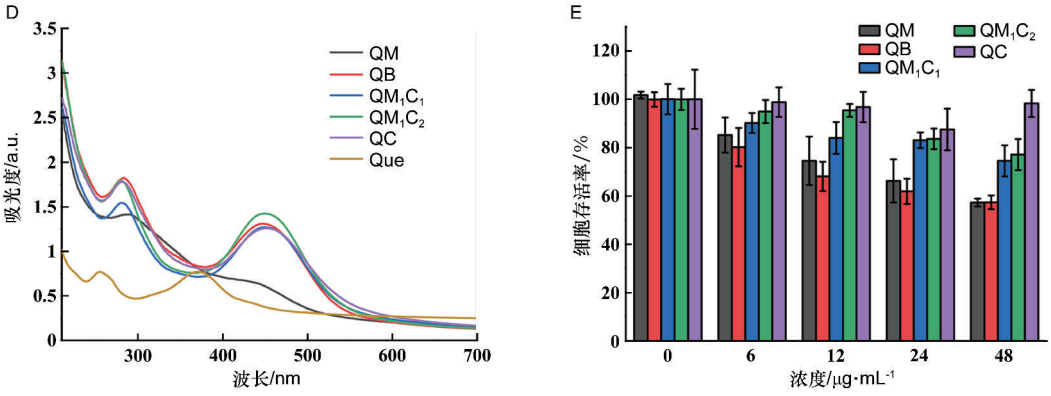
采用溶剂法制备空白纳米粒。准确称取 0.2 mmol·L^{-1} Que 和 40 mg PVP 溶于 6 mL DMF 中搅拌 30 min,再称取 0.4 mmol·L^{-1}金属盐和 40 mg PVP 溶于 6 mL DMF 中搅拌 30 min,将含金属溶液快速加入含 Que 溶液中,12 000 r·min^{-1}离心 10 min,弃去上清,水洗 3 次除去残留试剂,得到纳米粒,产物重悬分散在少量去离子水中保存。

1.2　金属盐的筛选及表征

采用乙酸锰和乙酸铜作为金属盐,按锰铜不同摩尔比分为 5 组:仅含锰、锰∶铜 = 2∶1、锰∶铜 = 1∶1、锰∶铜 = 1∶2、仅含铜,分别命名为 QM、QM_2C_1(又称 QB)、QM_1C_1、QM_1C_2 和 QC。其中,制备仅含铜的纳米粒时,溶液混合时采用缓慢滴加的方法。保持其他合成条件不变,制备不同锰铜比例的纳米粒。

采用动态光散射法(dynamic light scattering, DLS)测定所制备纳米粒的粒径和 Zeta 电位,结果见图 1A 和图 1B。QM 粒径为 239.7 nm,多分散指数(polydispersity index,PDI)为 0.121,电位为 －9.2 mV;QB 粒径为 218.0 nm,PDI 为 0.135,电位为 －9.7 mV;QM_1C_1 粒径为 222.7 nm,PDI 为 0.123,电位为 －9.8 mV;QM_1C_2 粒径为 237.4 nm,PDI 为 0.153,电位为 －10.3 mV;QC 粒径为 215.0 nm,PDI 为 0.161,电位为 －9.4 mV。各纳米粒的粒径大小和 Zeta 电位相似,粒径在 200～240 nm 之间,Zeta 电位在 －11～－9 mV 之间。





A:粒径分布图;B:Zeta 电位图;C:FTIR 图;D:紫外吸收光谱;E:对 B16F10 细胞存活率的影响情况

图 1 不同锰铜比例合成的空白纳米粒情况

采用傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometer,FTIR)在 600 ~ 4 000 cm^{-1} 范围内对 QM、QB、QM_1C_1、QM_1C_2 和 QC 进行红外光谱测定,结果见图 1C。Que 的羰基振动频率 υ(C ═O)位于 1 663 cm^{-1},当形成配合物后,C ═O 特征吸收峰的波峰有较大变化,羰基的 C ═O 振动频率均向低波数方向移动了 15 ~ 22 cm^{-1}[20]。由此可见,配体羰基氧参与配位反应,即合成了槲皮素-金属配合物。

使用紫外-可见分光光度计(ultraviolet-visible spectrophotometer,UV-Vis)扫描浓度为 70 μg·mL^{-1} 的 QM、QB、QM_1C_1、QM_1C_2、QC 和 Que 的全波长,结果见图 1D。与 Que 相比,不同金属比例的配合物纳米粒紫外吸收峰发生明显色移,同样证明了配合物的成功合成[21]。同时,锰铜摩尔比不同,配合物的紫外吸收峰色移也会有轻微差异。

采用噻唑蓝法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide,MTT]检测 QM、QB、QM_1C_1、QM_1C_2、QC 的细胞毒性,筛选金属配合物。本研究选用来自 C57BL/6 小鼠的恶性黑色素瘤细胞系 B16F10,因其具有高侵袭与转移能力,是评估药物递送系统效果的成熟模型,被广泛用于相关研究,便于与已有数据进行比对。将 B16F10 细胞以 7 000 个·$孔^{-1}$ 的密度接种于 96 孔板上,在含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中培育 24 h。弃去孔内培养基后每孔分别加入含不同浓度(0、6、12、24 和 48 μg·mL^{-1})的载体,设置 6 个复孔,培养 48 h。弃去孔内培养基,每个孔中加入 100 μL MTT 溶液(0.5 mg·mL^{-1})。4 h 后,弃去 MTT 溶液,向每个孔中加入 100 μL 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO),在 37 ℃摇床上震荡 15 min 使 DMSO 完全溶解甲瓒晶体,用酶标仪测 490 nm 处的吸光度,评定细胞活性。细胞存活率计算公式如下:

$$细胞存活率=\frac{载体组的吸光度}{对照组的吸光度}\times 100\% \quad 式(1)$$

随着载体浓度的升高,细胞存活率逐渐下降,QB 与细胞孵育后的存活率最低,当浓度为 48 μg·mL^{-1} 时,存活率为 57.34%,见图 1E。故选择 QB 进行后续载药和修饰。

1.3 QB 的响应性

取 QB 冻干产物 30 mg,分别溶于 15 mL pH 7.4、pH 5.0 和含 10 mmol·L^{-1} GSH pH 5.0 的 PBS 中,搅拌 24 h。12 000 r·min^{-1} 下离心 10 min,水洗 2 次,得到沉淀产物。将产物冻干后,分别用于测定紫外和红外吸收。

结果如图 2 所示,QB 经 pH 7.4 的 PBS 处理 24 h 后,与 QB 组比较,在 260 ~ 310 和 400 ~ 470 nm 范围内紫外吸收峰轻微减弱,最大吸光度分别由 1.32 降至 1.05、0.67 降至 0.62,经 pH 5.0 PBS 处理后吸收峰进一步减弱,分别进一步下降至 0.78 和 0.54。经含 GSH 的 pH 5.0 PBS 处理后吸收峰发生明显色移,且在 374 nm 下出现紫外吸收峰,与 Que 的紫外吸收峰一致,说明 QB 在模拟肿瘤微环境中发生了响应性降解,释放出游离 Que。红外图谱中,QB 在不同条件下的分解情况与紫外图谱相符,在含 GSH 的 pH 5.0 PBS 条件下吸收峰变化最明显,以上结果说明 QB 具有 pH 和 GSH 双响应性。

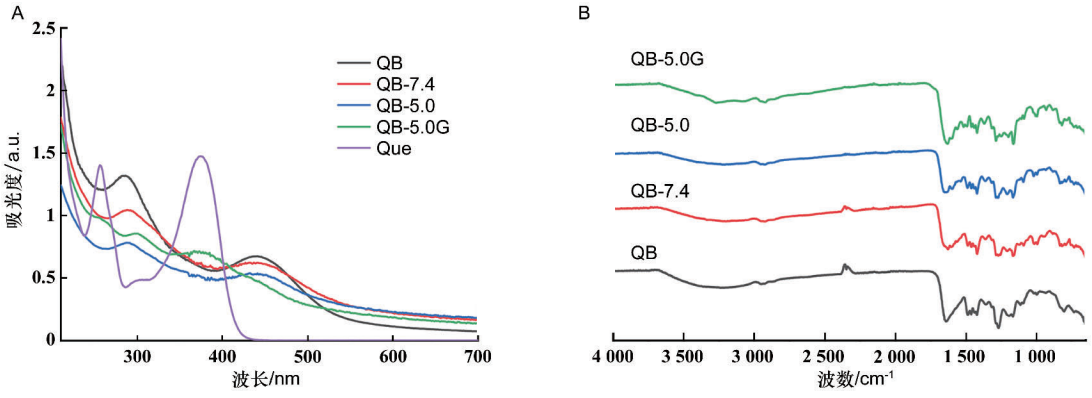


图 2　QB 纳米粒在不同条件下分解的紫外吸收光谱(A)和 FTIR 图(B)

2　载药纳米粒的制备与筛选

2.1　载药纳米粒的制备

调节 DOX 的投药量,分别投入 0.03、0.05 和 0.07 mmol·L^{-1} DOX,依次命名为 QB-0.03D、QB-0.05D(又称 QBD)和 QB-0.07D。

合成 QB-0.03D:称取 0.2 mmol·L^{-1} Que、40 mg PVP 和 0.03 mmol·L^{-1} DOX 溶于 6 mL DMF 中避光搅拌 30 min,称取 0.266 7 mmol·L^{-1}乙酸锰、0.133 3 mmol·L^{-1}乙酸铜和 40 mg PVP 溶于 6 mL DMF 中搅拌 30 min。将含金属溶液快速加入含 Que 溶液中搅拌 1 min,12 000 r·min^{-1}离心 10 min,弃去上清,水洗 3 次除去残留试剂,得到沉淀产物即 QB-0.03D,产物重悬分散在少量去离子水中保存。

QBD 和 QB-0.07D 的合成中分别加入 0.05 和 0.07 mmol·L^{-1} DOX,其余操作同上。

采用动态光散射法测定所制备纳米粒的粒径和 Zeta 电位,结果见图 3A 和图 3B。QB-0.03D 粒径为 220.2 nm,PDI 为 0.127,电位为 -6.3 mV;QBD 粒径为 226.3 nm,PDI 为 0.136,电位为 -5.5 mV;QB-0.07D 粒径为 217.4 nm,PDI 为 0.133,电位为 -4.8 mV。各纳米粒的粒径大小相似,在 220 ~ 240 nm 之间,证明在合成过程中负载 DOX 对配合物的合成不会产生明显影响。随着 DOX 投药量的增加,Zeta 电位逐渐增加,证明 QB 中成功负载了 DOX。采用 FTIR 在 600 ~ 4 000 cm^{-1}范围内对 QB-0.03D、QBD 和 QB-0.07D 的冻干产物进行红外光谱测定,结果见图 3C。与 QB 相比,QB-0.03D、QBD 和 QB-0.07D 的红外光谱几乎没有变化,表明 QB 结构在负载 DOX 的过程中保持稳定。

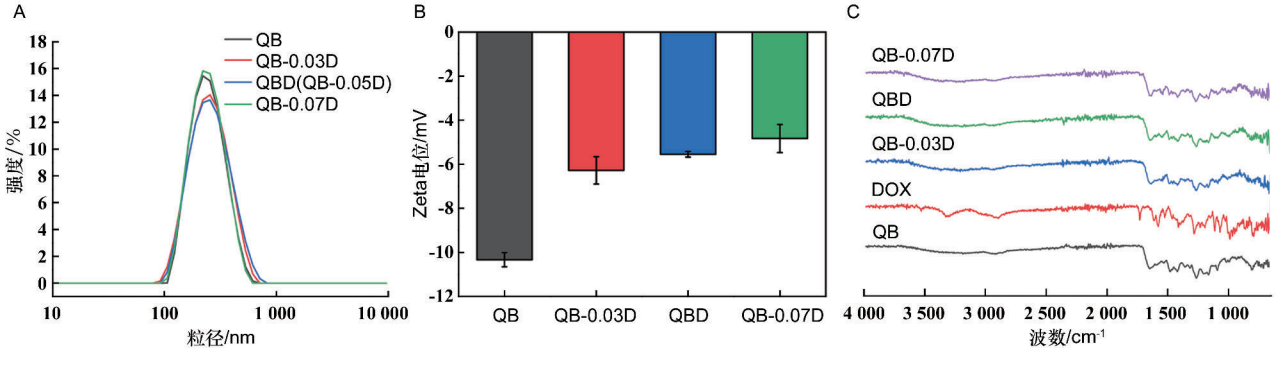


图 3　不同 DOX 投药量的载药纳米粒的粒径分布图(A)、Zeta 电位图(B)和 FTIR 图(C)

2.2　DOX 投药量的筛选

2.2.1　DOX 标准曲线的绘制　配制 50 μg·mL^{-1} DOX 溶液和 Que 溶液,通过荧光分光光度计扫描激发波长 497 nm、发射波长 200 ~ 800 nm 下的波长,确定最大发射波长。测定 DOX 最大发射波长下不同浓度的 DOX 溶液的荧光强度,以 DOX 对照品浓度为横坐标,荧光强度为纵坐标,进行线性回归分析并绘制标准曲线。

DOX 和 Que 的荧光曲线如图 4 所示，在激发波长 497 nm 下分别获得 DOX 和 Que 的荧光发射光谱，其中 DOX 的最大荧光发射峰在 595 nm 附近，而 Que 的最大荧光发射峰在 497 nm 附近，在 595 nm 附近几乎无荧光发射，故选用激发波长 497 nm、发射波长 595 nm 为检测波长。对 DOX 浓度与吸光度进行线性回归分析，得到线性回归方程 $Y = 22.292X + 34.593$（$R^2 = 0.999\,4$），说明在 3 ~ 40 μg·mL^{-1}浓度范围内线性关系良好。

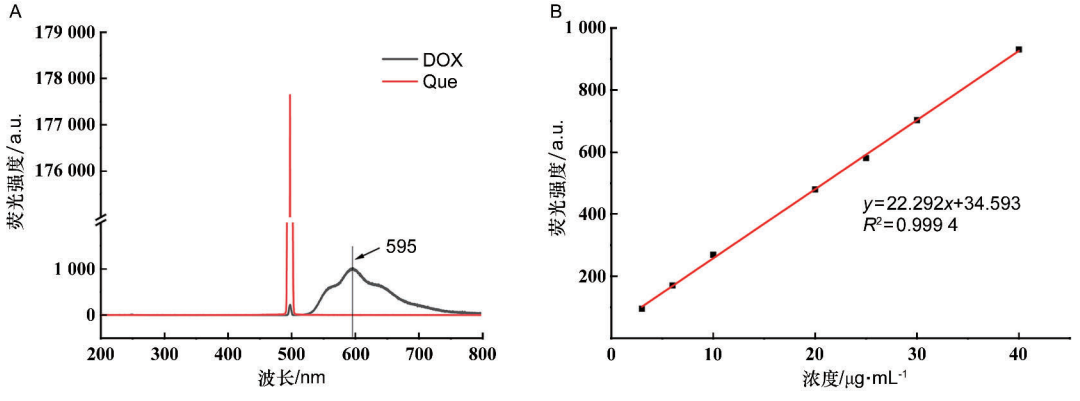


图 4 相同浓度的 DOX 和 Que 在激发波长 497 nm 下的荧光光谱（A）和 DOX 标准曲线（B）

2.2.2 包封率（encapsulation efficiency，EE）和载药量（loading capacity，LC）测定 将载药纳米粒合成过程中的 4 次上清液混合定容至 100 mL，混匀，取 1 mL 与已知体积的 1 mol·L^{-1}盐酸混匀，测定其在激发波长 497 nm、发射波长 595 nm 处的荧光强度，使其吸光度值在浓度为 3 ~ 40 μg·mL^{-1}的 DOX 对应的吸光度值之间，根据 DOX 标准曲线，得到上清液浓度，计算出上清液中 DOX 的含量。

根据 QBD 总质量、DOX 投药量与上清液中 DOX 的含量，计算 QB-0.03D、QBD 和 QB-0.07D 的 EE 和 LC，筛选出最佳的载药纳米粒。计算公式如下：

$$EE = \frac{W_{DOX}}{W_{DOX总}} \times 100\% \qquad 式(2)$$

$$LC = \frac{W_{DOX}}{W_{QBD}} \times 100\% \qquad 式(3)$$

其中，W_{DOX}为 QBD 纳米粒中 DOX 的质量，即 DOX 投入质量-总上清液中 DOX 质量；$W_{DOX总}$为投入的 DOX 总质量；W_{QBD}为 QBD 纳米粒的总质量。

QBD 纳米粒中 DOX 的 EE 和 LC 结果见表 1。本研究的筛选遵循“在保证高包封率的基础上，最大化载药量”原则。据此，DOX 投药量为 0.05 mmol·L^{-1}时合成的 QBD 被确定为最优载药纳米粒并用于后续研究。

表 1 QBD 负载 DOX 的 EE 和 LC

产物名称	EE/%	LC/%
QB-0.03D	90.50 ± 0.41	9.92 ± 0.42
QBD	90.21 ± 0.45	15.89 ± 0.34
QB-0.07D	83.86 ± 1.11	19.72 ± 0.54

2.3 Que 的含量

2.3.1 Que 标准曲线的绘制 配制 20 μg·mL^{-1} DOX 溶液和 Que 溶液，通过紫外分光光度计扫描 200 ~ 800 nm 下的波长，确定最大吸收波长。然后测定 Que 最大吸收波长下不同浓度的 Que 溶液的吸光度，以 Que 对照品浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，进行线性回归分析并绘制标准曲线。

DOX 和 Que 的紫外全波长曲线如图 5 所示，Que 在 374 nm 处有最大吸收，DOX 在 482 nm 处有最大吸收且在 374 nm 波长附近无吸收，故选用 374 nm 为检测波长。对 Que 浓度与吸光度进行线性回归分析，得到线性回归方程 $Y = 0.070\,8X + 0.070\,1$（$R^2 = 0.999\,7$），说明在 5 ~ 50 μg·mL^{-1}浓度范围内线性关系良好。

2.3.2 包封率和载药量测定 将 QBD 合成过程中的 4 次上清液混合定容至 100 mL，混匀，取 1 mL 与已知体积的 80% 乙醇混匀，测定其在 374 nm 处的紫外吸收，使其吸光度值在浓度为 5 ~ 50 μg·mL^{-1} Que 对应的吸光度值之间，根据 Que 标准曲线，得

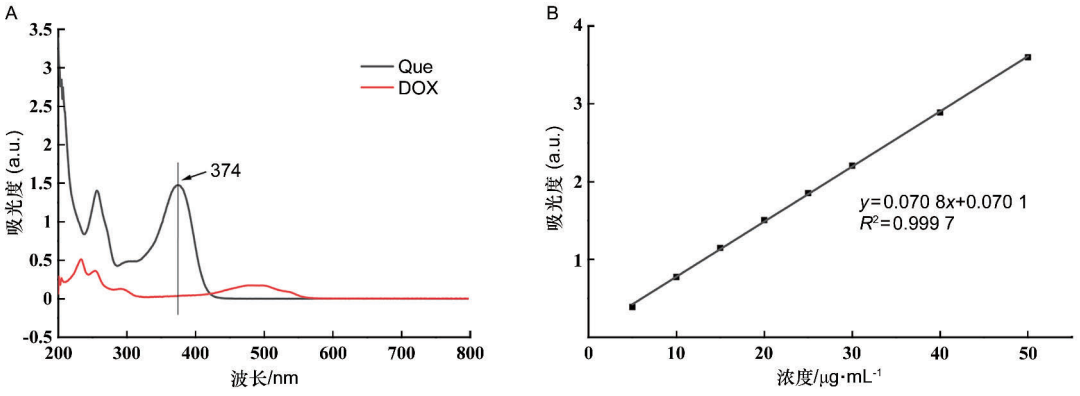


图 5 相同浓度 Que 和 DOX 的紫外吸收光谱(A)和 Que 标准曲线(B)

到上清液浓度,计算出上清液中 Que 的含量。QBD 纳米粒中 Que 的 EE 为(94.52 ± 0.71)%,LC 为(32.90 ± 1.98)%。

3 CS 修饰 QBD(即 QBDC)

3.1 QBDC 的制备

取 30 mg QBD,加水定容至 12 mL,用破碎机破碎 5 min,加入 30% CS,搅拌 1 h,12 000 r·min^{-1}下离心 10 min,去上清液,水洗 2 次,得到沉淀产物 QBDC。

3.2 QBDC 表征

采用动态光散射法测定所制备纳米粒的粒径、PDI 和 Zeta 电位,结果见图 6A 和图 6B。QBDC 纳米粒的粒径为(230.27 ± 3.33) nm,PDI 为(0.082 ± 0.004),电位为 -(17.03 ± 0.35) mV,较 QBD 纳米粒粒径略有提高,表明 CS 成功吸附在纳米粒表面从而导致粒径增大。Zeta 电位降低,证明带负电荷的 CS 成功修饰在 QBD 纳米粒上。

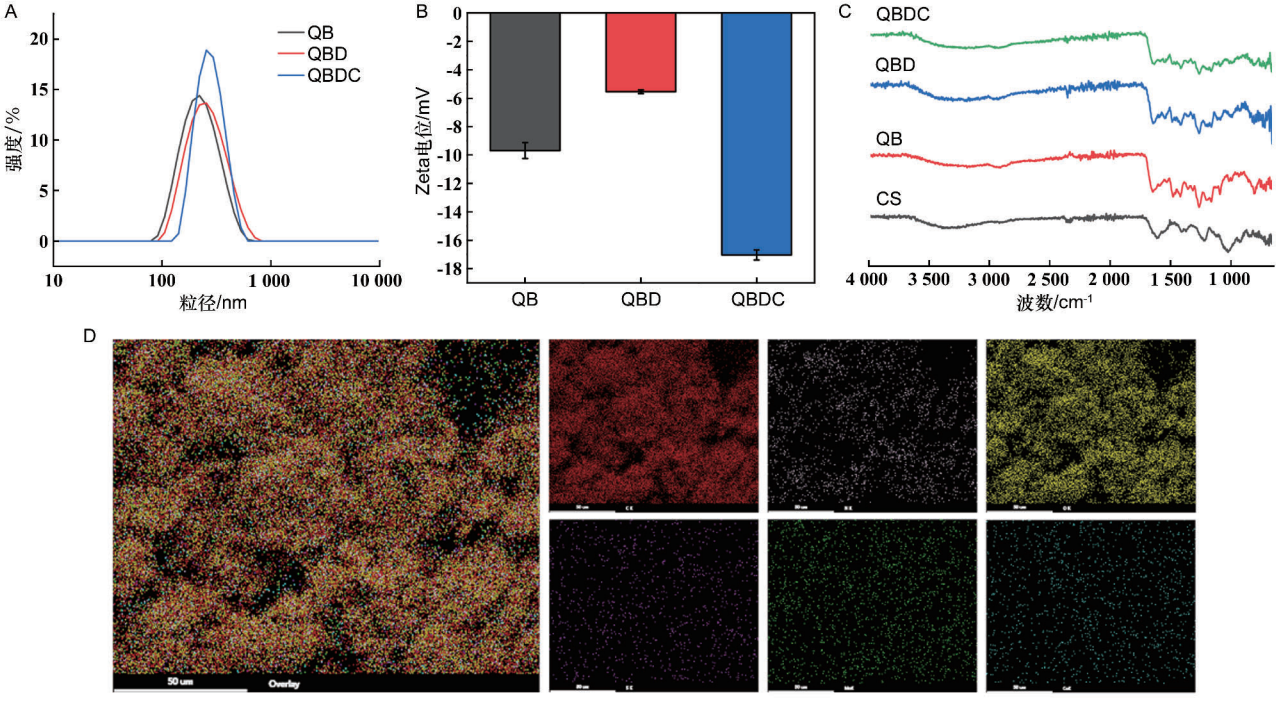


图 6 QB、QBD 和 QBDC 的粒径分布图(A)、Zeta 电位图(B)、FTIR 图(C)以及 QBDC 的元素分布图(D)

取适量 QB、QBD 和 QBDC 纳米粒,扫描获得 FTIR 图谱见图 6C。QB、QBD 和 QBDC 的红外光谱几乎没有变化,表明 QB 在负载 DOX 和修饰 CS 的过程中保持稳定。

能量色散 X 射线光谱(energy dispersive spectroscopy,EDS)元素分布显示,与 QBD 相比,CS 中含有特定元素 S,因此通过 EDS 分析 QBDC 中的元素组成以确定 CS 对 QBD 的成功修饰。结果如图 6D 所示,QBDC 在含有元素 QBD 中 C(64%)、N(3%)、O(26%)、Mn(3%)、Cu(2%)元素的同时,还含有 S(2%)元素,证明了 CS 对 QBD 的成功修饰。

4 体外释放实验

对 QBDC 递送系统进行体外释放 DOX 行为研究,考察了其在模拟不同生物环境的释放介质中的行为:生理环境(pH 7.4)、肿瘤组织微酸性环境(pH 5.0)以及肿瘤细胞内环境(pH 5.0 含 10 mmol·L^{-1} GSH)。实验设计基于明确的生物学事实,实体瘤的微环境呈弱酸性(pH 6.5 ~ 7.2),而载体被肿瘤细胞内吞后,将进入 pH 更低的内涵体/溶酶体(pH 5.0),并暴露于高浓度 GSH 中。因此,在含 GSH 的 pH 5.0 条件下实现高效药物释放是证明该载体能够进行肿瘤特异性释药的关键证据。取 5 mg QBDC 水溶液置于 3.5 kD 透析袋中,用棉绳在透析袋两端绑紧,放入含有释放介质的离心管中,于 37 ℃摇床中震荡。分别对不同释放介质进行 3 组平行实验,总共 9 组。在 0、20、40、60、90 min 以及 2、4、6、12、24、36、48 h 时取出 2 mL 溶液,并补加 2 mL 相同溶液。分别测各组不同时间段的释放介质在激发波长 497 nm、发射波长 595 nm 处的荧光强度,根据 DOX 标准曲线,得到释放的 DOX 含量,绘制药物累计释放百分比-时间曲线,公式如下:

$$E_r = \frac{V_e \sum_1^{n-1} C_i + V_0 C_n}{m_{DOX}} \times 100\% \qquad 式(4)$$

其中,V_e 为取样体积;V_0 为释放介质总体积;C_i 为第 i 次取样时释放介质中药物的浓度;C_n 为第 n 次取样时释放介质中药物的浓度;m_{DOX} 为 QBDC 中 DOX 的质量。

QBDC 递送系统中 DOX 体外释放曲线如图 7A 所示,在 pH 5.0 条件下 DOX 释放量为 39.2%,高于 pH 7.4 组的 6.2%,证明 QBDC 药物递送系统具有 pH 响应性。而在 pH 5.0 且含有 GSH 的条件下释放量最高,达到 83.2%,证明 QBDC 药物递送系统具有 pH 和 GSH 双响应性。显示出 DOX 在肿瘤微环境中释放量最多,可有效防止药物泄漏并降低不良反应。

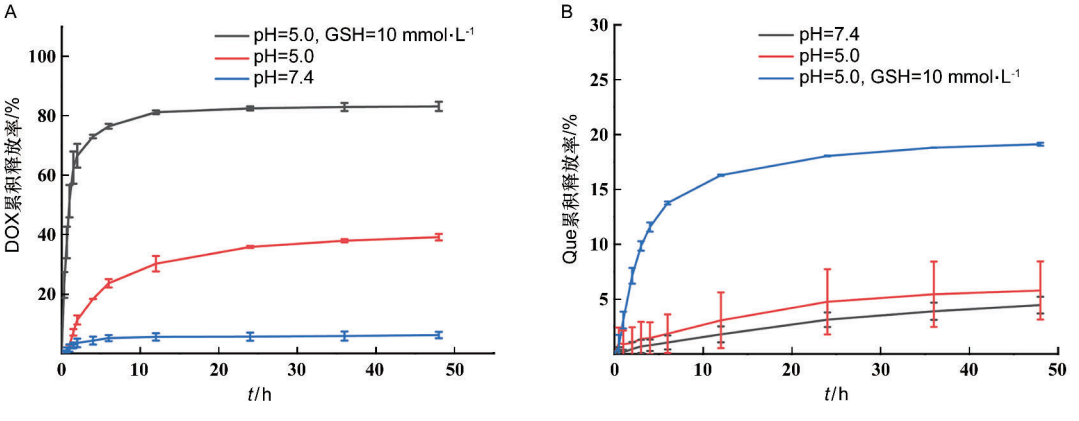


图 7 QBDC 递送系统中 DOX(A)和 Que(B)的体外药物释放曲线

在含有 5% 体积吐温 80(形成胶束实现增溶)的 pH 7.4 PBS、pH 5.0 PBS 和含 10 mmol·L^{-1} GSH 的 pH 5.0 PBS 条件下进行药物 Que 释放。在 0、30、60 min 以及 2、3、4、6、12、24、36、48 h 时检测药物释放。分别测各组不同时间段的释放介质在 374 nm 处的紫外吸收,根据 Que 标准曲线,得到释放的 Que 含量,绘制药物累计释放百分比-时间曲线。

QBDC 递送系统的 Que 体外释放曲线如图 7B 所示。在 pH 为 5.0 的条件下,Que 在 48 h 内的累积释放百分比为 5.8%,略高于 pH 7.4 的 4.4%。而 Que 在 pH 为 5.0 时的释放量远高于 pH 7.4 时的释放量,可能是酸性环境引发载体溶胀或孔隙扩张使包裹的 Que 释放,而 Que 作为载体骨架仍保持整体完整性,释放较少。Que 在含有 GSH 的 pH 5.0 条件下释放量最高,为 19.1%。在正常组织内 QBDC 的结构较稳定,而在肿瘤部位 QBDC 结构被破坏,有利于药物的靶向释放,减少不良反应。

5 抗氧化消耗与 ROS 生成

分别向含有等量锰、铜离子浓度的 QB、QBD 和 QBDC 水溶液中加入同等量 GSH 的 pH 7.4 PBS 溶液，QB 最终浓度为 300 μg·mL^{-1}，GSH 的最终浓度为 1 mmol·L^{-1}，混合反应 4 h，取 20 μL 上清液，通过 GSH 试剂盒测定其在 412 nm 处的吸收[22]。结果如图 8A 所示，当锰、铜离子浓度相等时，QB、QBD 和 QBDC 消耗的 GSH 含量相当，统计学上不具有显著差异，表明对 QB 进行负载药物与靶向修饰，不会影响 QB 的 GSH 的耗竭能力。由此可见，QBDC 递送系统可显著降低 GSH 水平。

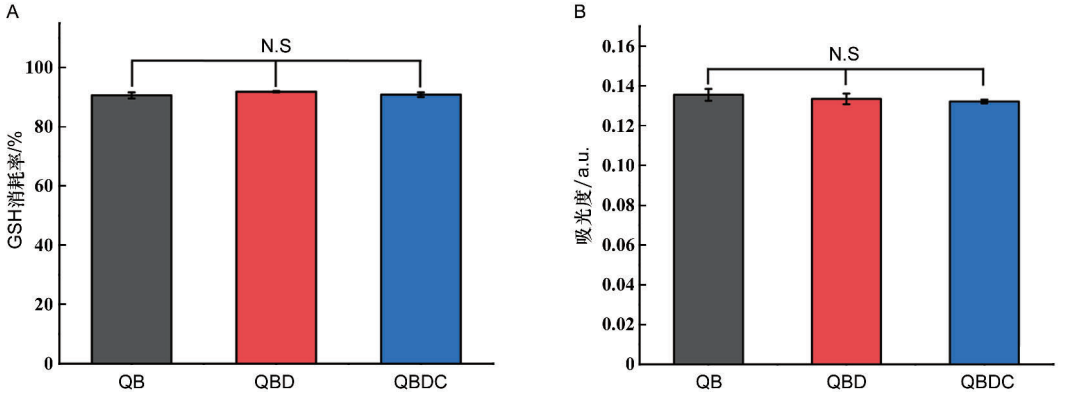


图 8　QB、QBD 和 QBDC 对 GSH 的消耗情况（A）和 ROS 产生量（B）

测定含有等量锰、铜离子浓度的 QB、QBD 和 QBDC 产生的 ROS 能力：上述纳米粒子在含有 GSH 的 pH 5.0 PBS 条件下与 H_2O_2 反应，反应体系为 2 mL，QB 浓度为 2 mg·mL^{-1}。3,3',5,5'-四甲基联苯胺（3,3',5,5'-tetramethylbenzidine，TMB）以 10 mg·mL^{-1} 的浓度溶解在 DMF 中，GSH 以 200 mmol·L^{-1} 的浓度溶解在 pH 5.0 PBS 溶液中，H_2O_2 浓度为 9.9 mol·L^{-1}。仅含 H_2O_2 不含纳米粒为阴性对照，仅含纳米粒不含 H_2O_2 为空白对照。将 1 mL QB、QBD 和 QBDC 均匀分散在 0.82 mL PBS 溶液中，统一加入 160 μL TMB 溶液和 20 μL H_2O_2 溶液。上下颠倒混匀 1 min 后，立即在 10 000 r·min^{-1} 下离心 2 min，取上清 100 μL 于酶标板中，测定在 652 nm 下的紫外吸收[23]。结果如图 8B 所示，QB、QBD 和 QBDC 含有的锰铜含量相等，ROS 产生量相当，统计学上不具有显著差异，表明负载 DOX 及修饰 CS 不影响产生 ROS 的能力。QBDC 可以在弱酸性的肿瘤微环境中协同催化高表达的 H_2O_2 并产生高毒性 ROS，实现化学动力学疗法。

6　生物安全性初步评价

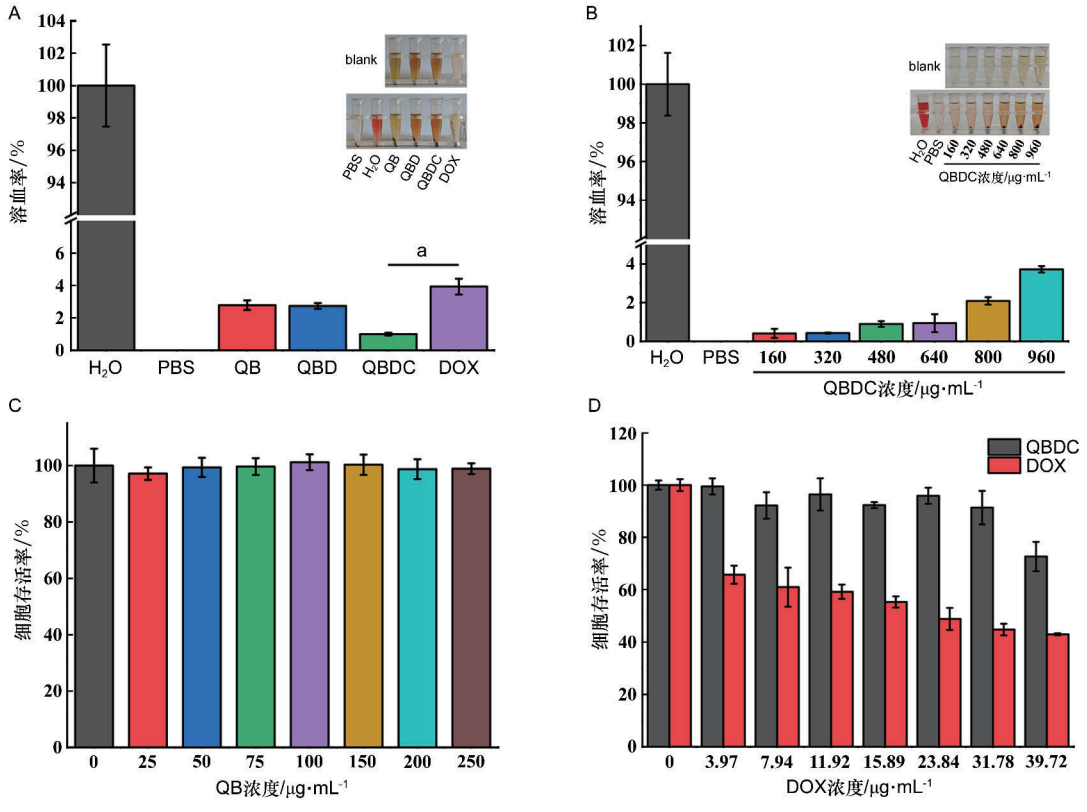
为评估药物载体的血液相容性，进行体外溶血实验。从健康的 C57BL/6 小鼠眼眶取血，并使用肝素钠作为抗凝剂。通过离心从血清中分离出红细胞。用 PBS 溶液进一步洗涤红细胞，直至获得澄清的上清液，以确保完全去除血浆成分[24]。随后，将纯净的红细胞沉淀重新悬浮于 PBS 中，配制为 5% 的红细胞悬浮液备用。

将 QB、QBD 和 QBDC 分别分散在 pH 7.4 的 PBS 缓冲液中，使浓度为 2 mg·mL^{-1}，超声分散混匀，各自取出 300 μL，置于 1.5 mL 离心管中，加入 325 μL PBS 溶液混匀，再加入 625 μL 红细胞稀释液，轻微混匀。在 37 ℃水浴孵育 2 h，然后将样品离心（3 000 r·min^{-1}，10 min），测量上清液在 540 nm 波长下的吸光度值。阴性对照为 PBS，去离子水作为阳性对照，不含红细胞稀释液仅含药物制剂组作为空白对照。此外，不同浓度的 QBDC 溶血实验操作同上，取出的 QBDC 体积分别是 100、200、300、400、500、600 μL。溶血率计算公式如下：

$$\text{溶血率} = \frac{\text{ODR} - \text{ODP}}{\text{ODW} - \text{ODP}} \times 100\% \qquad \text{式(5)}$$

式中，ODR、ODP、ODW 分别代表样品（QB/QBD/QBDC）、PBS 和去离子水。

溶血实验结果如图 9A 和图 9B 所示，QB、QBD、QBDC 和 DOX 引起的红细胞溶血率分别为 2.79%、2.74%、1.00% 和 3.94%。QBDC 引起的溶血率最低，显著低于游离 DOX，且在 960 μg·mL^{-1} 的浓度下，QBDC 表现出仅 3.72% 的溶血率，表明具有良好的血液相容性。



A:QB、QBD、QBDC 和 DOX 引起的溶血情况;B:不同浓度 QBDC 引起的溶血情况;C:不同浓度 QB 对 3T3 细胞存活率的影响;D:不同浓度 QBDC 和 DOX 对 3T3 细胞存活率的影响;QBDC 组与 DOX 组相比,a:$P<0.001$

图 9 溶血实验结果

作为在生物材料领域广泛使用的正常细胞模型,3T3 细胞能有效评估双金属载体材料本身的生物相容性与潜在毒性。在含体积分数 10% 新生牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中培养 3T3 细胞,置于 37 ℃、体积分数 5% CO_2 培养箱中孵育。将 3T3 细胞接种到 96 孔板中,细胞密度为 6×10^3 个·孔$^{-1}$,培养 24 h 后弃去孔中培养基,分别加入质量浓度为 0、25、50、75、100、150、200 和 250 μg·mL^{-1}的 QB 溶液,每孔 100 μL,每组 6 个复孔。孵育 24 h 后,弃去孔中培养基,每孔加入 100 μL MTT(0.5 mg·mL^{-1})孵育 4 h,弃去 MTT 溶液再加入 DMSO 进行反应,在 37 ℃摇床上震荡 15 min 使 DMSO 完全溶解甲瓒晶体,用酶标仪测在 490 nm 处的吸光度,评定细胞活性。QBDC 和 DOX 组操作同上。MTT 检测结果如图 9C 和图 9D 所示,在 0 ~ 250 μg·mL^{-1}质量浓度范围内,QB 对 3T3 细胞无明显毒性。且 QBDC 对正常细胞的杀伤作用显著低于游离 DOX,体现了更好的安全性。

7 抗肿瘤活性

采用 MTT 法检测 DOX、QBD 和 QBDC 的抗肿瘤活性。通过平行比较载药体系对 B16F10(肿瘤细胞)和 3T3(正常细胞)的毒性,证明该系统对肿瘤细胞具有选择性杀伤能力,这是其作为靶向递送系统的重要优势。将 B16F10 细胞以 7×10^3 个·孔$^{-1}$的密度接种于 96 孔板上,在含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中培育 24 h。弃去孔内培养基后每孔分别加入含有等量 DOX 的纳米粒,DOX 含量分别为 0、2、4、6、10 μg·mL^{-1},设 6 个复孔,培养 48 h。弃去孔内培养基,每个孔中加入 100 μL MTT 溶液(0.5 mg·mL^{-1})。4 h 后,弃去 MTT 溶液,向每个孔中加入 100 μL DMSO,在 37 ℃摇床上震荡 15 min 使 DMSO 完全溶解甲瓒晶体,用酶标仪测在 490 nm 处的吸光度,评定细胞活性。结果如图 10 所示,随着 DOX 浓度的升高,细胞存活率逐渐下降,游离 DOX 毒性大,低浓度即引起大量细胞死亡,可能是因为 DOX 小分子可以快速入胞,直接杀伤肿瘤细胞。DOX 浓度为 2 μg·mL^{-1}时 QBDC 组的细胞存活率显著低于 QBD 组,而随着浓度的升高,细胞存活率无显著差异。推测是在亚饱和浓度下,检测方法处于敏感的线性区间,此时修饰制剂展现出更强

的杀伤力;在较高的药物浓度下,细胞存活率较低,导致难以区分不同制剂间的差异。QBDC 组在低浓度下用更少的药物达到更高的杀伤效果,说明 CS 的靶向性促进了细胞对 DOX 的摄取,进而增强了 QBDC 的抗肿瘤效果。

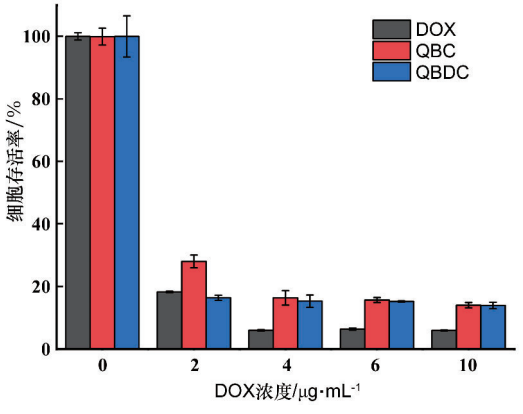
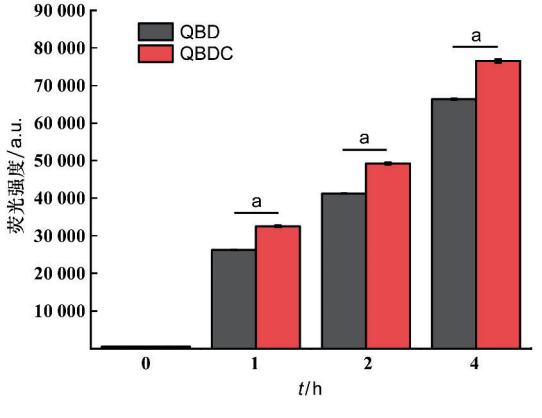


图 10 DOX、QBD 和 QBDC 对 B16F10 细胞存活率的影响

8 细胞摄取

将 B16F10 细胞按照 1×10^5 个·孔$^{-1}$的密度接种在 12 孔板中并孵育 12 h,然后分别用 50 μg·mL^{-1} QBD 和 QBDC 培养基孵育 0、1、2 和 4 h,通过离心(1 500 r·min^{-1},3 min)收集细胞,用流式细胞仪测定细胞的荧光强度。结果如图 11 所示,随着孵育时间的延长,细胞对药物的摄取增加,且对 QBDC 的摄取高于对 QBD 的摄取,说明 CS 的靶向性促进了细胞对药物的摄取,进而增强了 QBDC 的抗肿瘤效果。



QBDC 组与 QBD 组相比,a:$P<0.001$

图 11 B16F10 细胞对 QBD 和 QBDC 的摄取情况($n=3$)

讨 论

DOX 是一种广谱抗肿瘤药物,广泛应用于多种肿瘤的治疗,尽管疗效显著,但不良反应限制了其应用,因此通过金属配合物负载 DOX 实现靶向释放。由于金属配合物可能存在生物相容性和非活性问题,采用 Que 作为配体。Que 作为一种天然黄酮类化合物,具有强大的抗氧化、抗炎和抗肿瘤活性[25],在肿瘤治疗中展现出显著潜力。本研究将 Que 与金属锰、铜的配合物作为载体,调节锰铜比例筛选出纳米粒的最优制备工艺。将锰铜比为 2∶1的载体负载 DOX,调节 DOX 的投药量得到最佳 EE 与 LC 的载药纳米粒。将投药量为 0.05 mmol·L^{-1} DOX 的载药纳米粒进行 CS 修饰得到具有靶向性的纳米粒。最终制备的纳米粒粒径适宜,表面带有负电荷,其具有良好的药物释放情况、GSH 分解能力、ROS 产生能力、血液相容性、细胞相容性以及抗肿瘤能力。

这类金属配合物诱导肿瘤细胞凋亡,通过化学动力学疗法与化疗展现出协同抑制效果。双金属配合物在化学动力学疗法中展现出显著优势,是肿瘤治疗领域蓬勃发展的研究方向。双金属配合物通过协同催化增效提升化学动力学疗法的疗效,单一金属催化效率往往受限,双金属设计(如 Fe-Co[26]、Ce-Cu[27]、Ru-Cu[28])可通过金属间的价态循环和电子耦合,显著提升类芬顿反应速率和·OH 产率。同时肿瘤微环境的诸多特性如弱酸性、高浓度 GSH 和 H_2O_2 过度表达,为化学动力学疗法提供了条件。许多高价金属离子(如 Fe^{3+}、Cu^{2+}、Ce^{4+})能氧化消耗 GSH,这降低了肿瘤细胞的抗氧化防御能力,减少了·OH 被消耗的可能,使其更有效地攻击肿瘤细胞[29]。此外,双金属配合物极易与其他治疗方式联用,如放疗[30]、光热治疗[31]、免疫治疗[32]等,这种多模式治疗协同极大增强了抗肿瘤能力。双金属化学动力学疗法策略前景广阔,通过个性化设计与放疗、免疫治疗等多模式联用,以应对肿瘤微环境的异质性,最终实现高效低毒的精准肿瘤治疗。随着对其作用机制更深刻的理解、更多智能型材料的出现以及临床转化研究的不断深入,双金属配合物有望为肿瘤治疗提供更强大的武器。

本文构建了一个多功能协同的纳米诊疗平台,巧妙地将化疗和化学动力学疗法融为一体,并创新性地使用了天然活性分子 Que 作为金属配合物的配体,赋予了材料多种生物活性。最终通过 CS 修

饰实现对肿瘤的主动靶向,并通过 pH/ROS 双重响应实现了药物的精准可控释放,体现了“高效协同、智能精准、低毒长效”的肿瘤治疗思路,为高效减毒的肿瘤协同治疗提供了新策略,具有广阔的转化前景。

[参 考 文 献]

[1] YANG WL, SUN QH, ZHANG XD, *et al*. A novel doxorubicin/CTLA-4 blocker co-loaded drug delivery system improves efficacy and safety in antitumor therapy[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(6): 386.

[2] 赵晨旭, 蔺雪峰, 韩轩茂. 小檗碱对阿霉素诱导心肌损伤的影响及保护效应[J]. 包头医学院学报, 2025, 41: 48 – 53, 89.

[3] DENG KL, YANG DX, ZHOU YP. Nanotechnology-based siRNA delivery systems to overcome tumor immune evasion in cancer immunotherapy[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(7): 1344.

[4] LUAN F, HE XR, ZENG N. Tetrandrine: a review of its anticancer potentials, clinical settings, pharmacokinetics and drug delivery systems[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(11): 1491 – 1512.

[5] 王真玉, 龙巍然, 郑玉国, 等. 基于含氮羧酸配体/Co2 + 构筑的 2D 层状配合物的合成及结构表征[J]. 兴义民族师范学院学报, 2020(2): 120 – 124.

[6] SUN QQ, WANG Z, LIU B, *et al*. Recent advances on endogenous/exogenous stimuli-triggered nanoplatforms for enhanced chemodynamic therapy[J]. *Coord Chem Rev*, 2022, 451: 214267.

[7] CHEN G, YANG YY, XU Q, *et al*. Self-amplification of tumor oxidative stress with degradable metallic complexes for synergistic cascade tumor therapy[J]. *Nano Lett*, 2020, 20(11): 8141 – 8150.

[8] 王勤, 周刚, 申键. 槲皮素金属配合物合成及药理作用研究现状[J]. 北方药学, 2020, 17: 192 – 196.

[9] RONG Y, FAN ZX, YU ZJ, *et al*. An endoplasmic reticulum-targeting iridium(iii) complex induces immunogenic cell death in melanoma cells and enhances anti-PD-1 immunotherapy by remodeling tumor microenvironment[J]. *Inorg Chem Front*, 2023, 10(18): 5278 – 5291.

[10] ZHAO BL, BAN FZ, LI YH, *et al*. Exploiting mitochondrial dysfunction to overcome BRAF inhibitor resistance in advanced melanoma: the role of disulfiram as a copper ionophore[J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1): 482.

[11] ZHANG Y, SHI JY, ZHU J, *et al*. Immunometabolic rewiring in macrophages for periodontitis treatment via nanoquercetin-mediated leverage of glycolysis and OXPHOS[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(11): 5026 – 5036.

[12] ROSTAMKHANI N, SALIMI M, ADIBIFAR A, *et al*. Enhanced anti-tumor and anti-metastatic activity of quercetin using pH-sensitive Alginate@ ZIF-8 nanocomposites: *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Nanotechnology*, 2024, 35(47): 1361 – 6528.

[13] LI L, ZHANG MX, LIU TT, *et al*. Quercetin-ferrum nanoparticles enhance photothermal therapy by modulating the tumor immunosuppressive microenvironment[J]. *Acta Biomater*, 2022, 154: 454 – 466.

[14] SAJID S, JAHAN N, HUMA Z, *et al*. Fabrication, characterization, and *in vitro* testing of quercetin-copper(II) complex[J]. *Nano Biomed Eng*, 2024, 16(3): 402 – 415.

[15] 齐帆, 赵晓平, 范小璇, 等. 中医药调控肿瘤微环境治疗脑胶质瘤的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30: 303 – 314.

[16] WANG TT, FENG XC, LI LZ, *et al*. Effects of quercetin on tenderness, apoptotic and autophagy signalling in chickens during post-mortem ageing[J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132409.

[17] 魏传宇, 于晓宇, 申倩, 等. 基于网络药理学消岩汤中夏枯草与白花蛇舌草治疗非小细胞肺癌作用机制的研究[J]. 中医肿瘤学杂志, 2021, 3: 31 – 41.

[18] AHN B, LEE SG, YOON HR, *et al*. Four-fold channel-nicked human ferritin nanocages for active drug loading and pH-responsive drug release[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57(11): 2909 – 2913.

[19] ZENG XL, WANG YF, HAN JX, *et al*. Fighting against drug-resistant tumors using a dual-responsive Pt(IV)/Ru(II) bimetallic polymer[J]. *Adv Mater*, 2020, 32(43): e2004766.

[20] 魏素梅. 槲皮素衍生物的合成研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2009.

[21] DE SOUZA RFV, DE GIOVANI WF. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions[J]. *Redox Rep*, 2004, 9(2): 97 – 104.

[22] XU ZC, LUO QZ, HE YQ, *et al*. Endogenous nitric oxide releases in situ for RNS/ROS synergistic cancer therapy[J]. *Adv Funct Materials*, 2024, 34(17): 2314536.

[23] ZHANG L, SHEN H, LIU TT, *et al*. A pH/GSH dual-responsive triple synergistic bimetallic nanocatalyst for enhanced tumor chemodynamic therapy[J]. *Small*, 2025, 21(8): e2409836.

[24] LI AL, HUANG K, PAN WP, *et al*. Thiosemicarbazone mixed-valence Cu(I/II) complex against lung adenocarcinoma cells through multiple pathways involving cuproptosis[J]. *J Med Chem*, 2024, 67(11): 9091 – 9103.

[25] 雷西熙, 邓可斌, 姜锐. 槲皮素通过 TLR4/IRAK4/NF-κB 信号通路对过敏性鼻炎大鼠炎症反应的影响[J]. 中国药房, 2025, 36: 832 – 836.

[26] KONG HX, LI W, TIAN X, *et al*. NIR-activated FeCoOx nanozymes with tri-modal synergy for multi-target uproot drug-resistant bacterial keratitis[J]. *Chem Eng J*, 2025, 521: 166724.

[27] ZHOU H, BAO P, LIN YT, *et al*. Bimetallic nanoreactor mediates cascade amplification of oxidative stress for complementary chemodynamic-immunotherapy of tumor[J]. *Biomaterials*, 2025, 317: 123075.

[28] ZHENG NN, HU X, YAN L, *et al*. Bimetallic Cu@ Ru core-shell structures with ligand effects for endo-exogenous stimulation-mediated dynamic oncotherapy[J]. *Nano Lett*, 2024, 24(20): 6165 – 6173.

[29] ZHU YY, HUANG CJ, ZHONG H, *et al*. A drug ligand based bimetallic coordination-driven self-assembly nanodrug for high-efficiency tumor chemodynamic therapy[J]. *Mater Today Chem*, 2024, 36: 101977.

[30] CHEN RF, GONG JL, YU ZY, *et al*. X-ray triggered bimetallic nanoassemblies as radiosensitizers and STING agonists for a CDT/radio-immunotherapy strategy[J]. *Acta Biomater*, 2025, 192: 366 – 376.

[31] ZHAO L, CHANG F, TONG Y, *et al*. A multifunctional bimetallic nanoplatform for synergic local hyperthermia and chemotherapy targeting HER2-positive breast cancer[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(16): e2308316.

[32] GONG F, CHEN MC, YANG NL, *et al*. Bimetallic oxide FeWOX nanosheets as multifunctional cascade bioreactors for tumor microenvironment-modulation and enhanced multimodal cancer therapy[J]. *Adv Funct Materials*, 2020, 30(49): 2002753.

编辑:姚佳敏/接受日期:2025 – 12 – 03