

# 普鲁士蓝协同药物递送的抗癌作用效应研究进展

刘爽 陈星宇 侯雪 阚玉萍 阎雪莹\*

黑龙江中医药大学药学院 黑龙江 哈尔滨 150040

**【摘要】**：普鲁士蓝(PB)是一种具有独特物理、化学、光学和磁性特性的材料。普鲁士蓝纳米颗粒(PBNPs)具有合成简单可调控、易于表面功能化、稳定性良好、载药率较高以及具备靶向性等优势。此外，PBNPs拥有较大的比表面积和较高的光热转换效率，因此在生物医学领域，特别是肿瘤治疗方面广泛应用。本文对PBNPs在癌症治疗中的应用进行总结，提出了在癌症治疗中的潜在挑战和前景。这些研究进展揭示了PBNPs在癌症治疗领域的巨大潜力。

**【关键词】**：普鲁士蓝；纳米材料；光热特性；癌症治疗

DOI:10.12417/2705-098X.23.11.001

## Research progress on the anticancer effect of Prussian blue synergistic drug delivery

Shuang Liu, Xingyu Chen, Xue Hou, Yuping Kan, Xueying Yan\*

School of Pharmacy Heilongjiang University of Chinese Medicine Heilongjiang Harbin 150040

**Abstract:** Prussian blue (PB) is a material with unique physical, chemical, optical and magnetic properties. Prussian blue nanoparticles (PBNPs) have the advantages of simple and controllable synthesis, easy surface functionalization, good stability, high drug loading rate and targeting. In addition, PBNPs have a large specific surface area and high photothermal conversion efficiency, so they are widely used in the biomedical field, especially in tumor treatment. This article summarizes the application of PBNPs in cancer treatment and puts forward potential challenges and prospects in cancer treatment. These research advances reveal the great potential of PBNPs in the field of cancer treatment.

**Keywords:** Prussian blue; nanomaterials; photothermal characteristics; cancer treatment

普鲁士蓝(PB)是最古老的人工配位化合物，化学家Diesbach在1704年首次发现了普鲁士蓝(PB)并进行染色方面的应用。早在1936年，Keggin和Miles就报道了它的结构<sup>[1]</sup>。PB及其类似物是一种具有电学、磁学、生物化学和光学性质的无机盐配位络合物。其主要成分为混合价过渡金属六氰亚铁酸盐( $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ )<sup>[2]</sup>。但根据制备条件的不同也可将其精确地分为不溶性PB跟可溶性PB两种<sup>[3]</sup>。PB是一种亚铁氰化物铁，基本结构是基于立方晶格位置交替的二价铁离子和三价铁离子形成三维晶体网络其中 $\text{Fe}^{3+}$ 与氮原子配位， $\text{Fe}^{2+}$ 与碳原子配位，形成立方晶胞<sup>[4]</sup>。普鲁士蓝纳米粒子(PB NPs)是一种纳米材料，合成条件温和且具有独特的性能和良好的生物相容性，在生物医学中常用作诊断剂和治疗剂。其作为美国FDA通过用于临床治疗铊、铯等放射性物质的解毒剂，本身具有良好的生物安全性<sup>[5-7]</sup>。

PB NPs基于二价铁离子和三价铁离子的跃迁作用，在近红外光600-1000 nm处有较强的吸收峰，且不随PB尺寸与形貌的改变而发生变化<sup>[8]</sup>，基于此PB具有良好的光热性质，在肿瘤的光热治疗方面有巨大潜力。其结构简单、性质可调，还被用于核磁、光声成像造影剂和癌症治疗的光热转换剂<sup>[9]</sup>，但其作用机制尚不完全清楚。Li等人的论文首次设想了PBNPs作为MRI造影剂的可能性，因为抗体功能化的PBNPs具有良好的MRI增强能力。且在成像方面已有许多文献。在光动力诊

疗方面，普鲁士蓝常因其过氧化氢酶类似物活性用于改善肿瘤内部缺氧环境。2018年，Zhou等人首次证明了PB作为一种新型的光敏剂，能够通过近红外光辐射诱导的能量转移，高效地产生具有细胞杀伤能力的单线态氧。因此，普鲁士蓝可能作为一种新型的光热/光动力协同治疗纳米粒子，PBNPs既可以还原为普鲁士白，也可以氧化为普鲁士绿，因此在还原和氧化之间存在一个很大的氧化还原电位窗口，这导致了这些纳米粒子还具备了一些类似酶的特性。有研究表明，PBNPs能够清除体内多余的活性氧(ROS)，不仅可以用于治疗ROS相关疾病，同时能够分解肿瘤区域的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 产生 $\text{O}_2$ ，用于缓解肿瘤区域缺氧的治疗耐受难题。并且，PBNPs具有靶向作用，可以通过实体瘤内高通透性和滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR)被动靶向到肿瘤部位；另外PBNPs的多孔以及易于表面功能化的性质赋予了其高效结合或负载药物分子的功能，克服了常规药物溶解性差、特异性靶向能力不足和毒副作用大等弱点。

本文首先系统总结了普鲁士蓝纳米粒子的制备方法，然后介绍了普鲁士蓝纳米粒子的光热特性，并总结了近年来普鲁士蓝纳米粒子在癌症治疗中的应用，最后阐述了普鲁士蓝纳米粒子在生物医学应用中面临的挑战和未来前景。

### 1 PBNPs的设计与制备

由于PB的应用范围广泛，共沉淀法、模板辅助法、水热

合成法、微乳液法和绿色合成法等多种合成方法已被用于制备 PB NPs。已有用不同的技术合成了具有不同形态的 PB NPs, 包括立方体、纳米线、纳米管和空心球。

### 1.1 共沉淀法

在直接方法中, 可以通过将铁盐如  $\text{FeCl}_3$  与亚铁氰化钾 ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) 或亚铁盐如  $\text{FeCl}_2$  与铁氰化钾 ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) 反应来制备可溶和不溶的 PB。在间接方法中, 首先要通过将  $\text{FeCl}_2$  与亚铁氰化钾 ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) 反应来合成白色亚铁氰化铁 (Berlin white)。然后, 可以使用  $\text{H}_2\text{O}_2$  将其氧化为可溶或不溶的 PB。

### 1.2 模板辅助法

通过模板辅助法制备空心结构的 PBNPs, 它可以是空心纳米管、纳米球或纳米立方体, 通过控制模板的形状和尺寸, 可以制备出不同大小的 PBNPs。Wu 等人报告了一种合成普鲁士蓝聚合物杂化纳米粒子的新方法。该方法采用在大分子 P4VP 链转移剂存在下, 通过苯乙烯在甲醇/水中的分散聚合制备 P4VP 稳定的聚苯乙烯聚合物纳米颗粒模板。在分散体中加入五氰基亚胺铁酸钠水合物  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3]^{3-}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  的后续金属配位聚合将高铁酸盐限制在纳米颗粒的表面内导致产生单分散的 PB 包覆的聚合物纳米颗粒。

Shen 等人报道了使用“自我牺牲”Ag 模板制备的分别为 100nm 和 80nm 的 PB 空心纳米球和纳米管。这些 Ag 模板通过热还原形成后, 加入  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  和  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  溶液, 在 Ag 纳米晶表面沉积 PB 壳层。

### 1.3 水热合成法

在水热条件下, 水可以作为一种化学组分起作用并参加反应, 既是溶剂又是矿化剂同时还可作为压力传递介质; 通过参加渗析反应和控制物理化学因素等, 实现无机化合物的形成和改性。Maaoui 等人证明聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 可以作为还原剂, 在酸性溶液中利用单源前体制备 PBNPs, 在水溶液中高度稳定, 在室温下几个月没有任何明显的沉淀或聚集。刘雅斐等人用聚乙烯吡咯烷酮 K-30, 溶于酸性  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  溶液中, 室温下搅拌 30 min 至溶液变为澄清透明的黄色, 置于反应釜中在  $80^\circ\text{C}$  恒温条件下陈化反应 20h, 溶液由黄色变为绿色, 最后变为蓝色。丙酮洗涤离心后获得 PB NPs。其平均粒径为 106.2nm, 电位为  $-14.5 \pm 1.20\text{mV}$ , PDI 为 0.044, 均一性良好。

### 1.4 微乳液法

微乳液是由水、油、表面活性剂和助表面活性剂按一定的比例混合形成的热力学稳定体系。在 W/O 型微乳液体系中, 其内部的球状水滴直径通常很小 (仅 50~80 nm), 是制备纳米材料的理想“反应容器”。与传统的合成方式相比, 通过改变微乳液的体系结构可以方便地对纳米颗粒的粒径大小、形貌以及分散性进行有效控制。微乳液是一种有效的制备方法, 法可以控制 PBNPs 的成核和晶体生长。Vaucher 等人以双(2-乙基己

基)磺基琥珀酸钠 (AOT) 为表面活性剂制备了反相微乳液 (水剂-油), 制备了 PBNPs 他们观察到  $[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]^{3-}$  可以在日光下缓慢生成  $\text{Fe}^{2+}$ , 随后与  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  协同, 实现对水剂相纳米粒子生长的对照。

### 1.5 绿色合成法

长期以来, 合成 PBNPs 几乎都使用稳定聚合物或笼状结构: 几种“绿色”合成和生物来源的分子, 如壳聚糖、可溶性淀粉和病毒衣壳。

在  $\text{H}_2\text{O}_2$  存在下,  $\text{FeCl}_3$  和  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  混合可以得到不含任何稳定聚合物的 PBNPs。基于  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  作为单一前驱体的合成路线: 亚铁氰化物离子缓慢解离, 确保有限浓度的亚铁离子可用于氧化, 从而生成 PB。以亚铁氰化钾和氯化氢水溶液为试剂进行了合成。通过控制前驱体浓度和反应温度, 可以很好地控制颗粒的大小和形状。

在水中合成 PBNPs 最常见的方法是柠檬酸/柠檬酸包盖法。不在需要聚合物基体或保护笼, 用  $\text{Fe}^{3+}$  盐, 亚铁氰化物和柠檬酸。这种方法可以得到稳定的立方体纳米粒, 其易于表面功能化, 在水、醇和水二甲基亚砷混合物中具有良好的溶解性, 且无细胞毒性。唯一的缺点是粒径分布相对较宽。因此, 柠檬酸包盖法似乎是在温和条件下合成的最佳折衷方案, 使用绿色试剂, 可以生产粒径均一、形状可控的纳米颗粒。

## 2 普鲁士蓝作为纳米载体在肿瘤治疗中的应用

PBNPs 因其固有的血液稳定性、生物相容性、低细胞毒性、低成本、易于制备、形态可调、粒径可控等特点, 是一种新颖而有潜力的药物递送系统, 可用于满足不同药物递送的各种需求。在过去的几十年里, 基于 PBNPs 的药物递送系统已取得了一些进展, 在癌症和感染疗法方面取得了重大突破。PBNPs 已证明具有提高治疗效果、减少全身毒性和将治疗药物输送到器官、组织和细胞的能力。

### 2.1 光热疗法

由于  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  之间通过氰化物离子的电荷转移, PBNPs 可以有效地将近红外光转化为热能来提高体温。已经成为新型激光引导试剂, 被广泛研究于肿瘤消融的应用中。

Hoffman 等人报道了一种合成方案稳定、单分散的 PBNPs, 用作激光诱导光热治疗的试剂。在 808nm 激光照射下, PBNPs 可以被迅速加热至  $40^\circ\text{C}$  以上。在小鼠模型的体内研究表明, 基于 PBNPs 激光诱导的光热治疗可导致肿瘤生长速度下降, 并被去除。这些结果提示了以 PB 为基础的激光诱导光热治疗的潜力外, 激光功率和辐照时间等外部因素也会影响光热效应。例如, Cai 和他的同事报道了  $\text{Gd}^{3+}$  整合在 PB 框架中, 使其具有可调的局部表面等离子体共振 (LSPRs), 其范围从 710 nm 到 910 nm, 在激光波长 (808 nm) 附近达到最大近红外峰值, 使它们在组织中具有更高的穿透深度。Cheng 等人

成功地制备了平均尺寸为 60nm 的 PEG 改性 PBNPs, 将其注射给荷瘤模型小鼠, 然后用近红外激光照射肿瘤, 与空白对照组的小鼠相比, 给药小鼠的肿瘤大小明显降低。并且, 在测试的剂量下, 其在两个月内对小鼠没有明显的毒性。

## 2.2 光动力疗法

光动力治疗(PDT)是一种无长期副作用、创伤小、可反复治疗、靶向性高于化疗的肿瘤治疗手段。PDT 由光敏剂(PSs), 具有与光敏剂相同吸收峰的特定波长光源和氧三种物质组成。在特定波长的照射下, PSs 会产生对细胞具有杀伤作用的活性氧(ROS), 如单线态氧 ( $^1O_2$ )、超氧自由基( $O_2^{\cdot-}$ )、羟基自由基 ( $\cdot OH$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )等。2018 年, Wang 等人在 PB NPs 表面包覆一层介孔二氧化硅负载酞菁锌(ZnPc)光敏剂, 并连接聚乙二醇链改性。实验证明, 改性后的 PB NPs 在肿瘤 PTT/PDT 方面治疗效果大幅提升。2020 年, Odda 等人设计了一种基于氯离子功能化聚多巴胺(PDA)包覆普鲁士蓝/二氧化锰纳米颗粒的多功能治疗纳米系统(PB-MnO<sub>2</sub>@PDA-Ce6 NPs), 这种纳米系统不仅有效的传递了 Ce6, 且在近红外窗口内具有很强的光吸收能力。PB-MnO<sub>2</sub>@PDACe6 纳米材料表现出缺氧环境改良、活性氧生成和较强的光热转换能力, 极大改善了肿瘤 PTT/PDT 诊疗效果。

## 2.3 协同疗法

基于光热治疗领域的不断开拓, 科研人员目前已经逐步实现了光热联合化学疗法、光热联合光动力学疗法、光热联合免

疫治疗等, 其中光热与化疗相结合方面的研究较多。2015 年 Xue 等人制备了凝胶-阿霉素偶联物包覆的普鲁士蓝纳米颗粒。药物释放由明胶酶触发, 明胶酶是一种在肿瘤组织中过表达的内源性蛋白水解酶。在体外对 HuH7 肿瘤细胞进行了实验, 结果表明, 该材料具有良好的光热效应, 具有光热治疗与化疗的协同作用。同一作者报道了一种基于 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PB 核壳纳米颗粒包被明胶-阿霉素偶联(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PB@GEL-DOX NP)的治疗设备。该系统的三个主要组成部分(即 PB、DOX、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)均获得 FDA 批准, 并成功合成了 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PB@GEL-DOX, 结合了光热特性、磁特性和装载和交付典型化疗药物的可能性。

## 3 展望

随着纳米技术的高速发展, 新型生物医用材料不断涌现, PBNPs 凭借优良的生物相容性和生物安全性开始在肿瘤治疗方面崭露头角。PBNPs 具备优异的光热转换性能, 可将光能转换成热能, 由于具有较大的比表面积和较高的光热转换效率, 可广泛用于如光热治疗、光动力治疗、协同治疗等, 显著改善了癌症的治疗效果, 为肿瘤治疗提供了新的思路, 新型功能化 PBNPs 的研发在扩展其应用领域方面具有重大意义。

但是对于 PBNPs 对诊断和治疗效果的影响因素还没有进行系统的研究。为了获得高质量的治疗效果的 PBNPs, 有必要对其机制进行研究。在未来的研究中, 我们还应该更加关注 PBNPs 的形成机制, 这有助于精确调控 PBNPs 的性质, 相信随着研究的不断深入, 为临床癌症治疗方法提供更多发展的可能性。

## 参考文献:

- [1] KEGGIN, J., MILES, F. Structures and Formulæ of the Prussian Blues and Related Compounds. *Nature* 137, 577 – 578 (1936).
- [2] Patra CR. Prussian blue nanoparticles and their analogues for application to cancer theranostics. *Nanomedicine (Lond)*. 2016 Mar;11(6):569-72.
- [3] Busquets MA, Estelrich J. Prussian blue nanoparticles: synthesis, surface modification, and biomedical applications. *Drug Discov Today*. 2020 Aug;25(8):1431-1443.
- [4] Tian H, Guo Z, Chen J, et al. PEI conjugated gold nanoparticles: efficient gene carriers with visible fluorescence[J]. *Advanced healthcare materials*, 2012, 1(3): 337-341.
- [5] Mohammad A, Faustino PJ, Khan MA, Yang Y. Long-term stability study of Prussian blue - a quality assessment of water content and thallium binding. *Int J Pharm*. 2014 Dec 30;477(1-2):122-7.
- [6] Mohammad A, Yang Y, Khan MA, Faustino PJ. A long-term stability study of Prussian blue: A quality assessment of water content and cesium binding. *J Pharm Biomed Anal*. 2015 Jan 25;103:85-90.
- [7] Center for Disease Control. Available online: <https://emergency.cdc.gov/radiation/prussianblue.asp> (accessed on 11 June 2018).
- [8] Tong X, Srivatsan A, Jacobson O, Wang Y, Wang Z, Yang X, Niu G, Kiesewetter DO, Zheng H, Chen X. Monitoring Tumor Hypoxia Using (18)F-FMISO PET and Pharmacokinetics Modeling after Photodynamic Therapy. *Sci Rep*. 2016 Aug 22;6:31551.
- [9] Hu X, Mei S, Meng W, Xue S, Jiang L, Yang Y, Hui L, Chen Y, Guan MX. CXCR4-mediated signaling regulates autophagy and influences acute myeloid leukemia cell survival and drug resistance. *Cancer Lett*. 2018 Jul 1;425:1-12.