

磁性纳米复合光敏剂对人癌细胞体外杀伤效应

毕玉水¹, 王凤泽²

(1. 泰山医学院 化学与制药工程学院, 山东 泰安 271016; 2. 泰山医学院 生命科学学院, 山东 泰安 271016)

摘要: 以硫酸亚铁、三氯化铁、正硅酸乙酯和四氯化钛为原料, 通过沉淀、Stöber 和溶胶-凝胶法, 制备得到一种磁性纳米复合光敏剂 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$, 通过 XRD、TEM、UV-vis 和磁性测试对其进行了表征, 利用四甲基偶氮唑蓝比色法 (MTT 法) 考察了该纳米复合光敏剂对 A549 人肺癌细胞的体外杀伤效应和不同 TiO_2 负载量的 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 对 A549 人肺癌细胞增殖抑制率的影响。结果表明, $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 具有核壳结构和磁性, 具有可见光吸收能力, 能充分响应波长在 400 nm 以上的可见光。体外杀伤效应评价结果表明, 当光照时间为 150 min 时, TiO_2 负载量为质量分数 30% 的纳米复合光敏剂和单纯的 TiO_2 对 A549 人肺癌细胞增殖的抑制率分别为 51% 和 36%, 该纳米复合光敏剂具有增强的光动力活性。

关键词: 纳米复合 TiO_2 光敏剂; 磁性; 光动力疗法; 活性; 功能材料

中图分类号: O643.3; TB34 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214(2018)06-0923-05

Killing Effect of Magnetic Nanocomposite Photosensitizer on Human Cancer Cells *in Vitro*

BI Yu-shui¹, WANG Feng-ze²

(1. School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Taishan Medical University, Tai'an 271016, Shandong, China; 2. School of Life Sciences, Taishan Medical University, Tai'an 271016, Shandong, China)

Abstract: A magnetic nanocomposite photosensitizer, $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$, was prepared by precipitation, Stöber and sol-gel methods, using ferrous sulfate, ferric chloride, tetraethyl orthosilicate and titanium tetrachloride as raw materials. The sample was characterized by means of XRD, TEM, UV-vis and magnetic tests. The killing effect of this photosensitizer on A549 human lung cancer cells *in vitro* was evaluated by methyl thiazolyl tetrazolium colorimetric method (MTT method). In addition, the effects of different TiO_2 loadings of $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ on the inhibition ratio of A549 human lung cancer cells were investigated. The results showed that the as-prepared magnetic nanocomposite photosensitizer with core shell structure exhibited strong visible light absorption capability, and it could absorb light at wavelengths above 400 nm. The results of *in vitro* cytotoxicity assay revealed that when the illumination time was 150 min, the mole fractions of inhibiting proliferation of A549 human lung cancer cells for nanocomposite photosensitizer and pure TiO_2 were 51% and 36%, respectively, indicating that the nanocomposite photosensitizer had enhanced photodynamic activity. The optimum mass fraction of TiO_2 was 30%.

Key words: nanocomposite titanium dioxide photosensitizer; magnetic property; photodynamic therapy; activity; functional materials

Foundation items: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2015EL010); National College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program (201510439030); Science and Technology Development Project of Administration of Traditional Chinese Medicine of Shandong Province (2015-252); Science and Technology Development Project for Safety Production of Shandong Province (2016-89); Tai'an

收稿日期: 2017-04-18; 定用日期: 2017-10-09; DOI: 10.13550/j.jxhg.20170324

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2015EL010); 国家级大学生创新创业训练计划(201510439030); 山东省中医药管理局科技发展计划(2015-252); 山东省安全生产科技发展计划(2016-89); 泰安市科技发展计划(2015GX2045, 2016GX1043)

作者简介: 毕玉水(1977—), 男, 博士, 教授, 电话: 0538-6275408, E-mail: yshbi@sina.com.

Municipal Science and Technology Development Plan (2015GX2045, 2016GX1043)

光动力疗法 (PDT) 是近年来医药界十分关注的一种肿瘤新疗法。此法是以特定波长的光激活肿瘤组织内蓄积的光敏剂, 产生单线态氧或氧自由基等物种, 通过氧化损伤杀死癌细胞^[1]。与传统的外科手术、化疗、放疗相比, PDT 具有创伤小、毒副作用小、无耐药性、选择性好、可重复治疗等优点。作为一种微创疗法, PDT 对人体浅表和深层肿瘤治疗均具有重要价值^[2]。PDT 的关键要素之一是光敏剂, 传统的卟啉类、染料类、叶绿素类等有机光敏剂虽具有一定的活性, 但靶向性不足, 生物利用度低且易被光腐蚀^[3-4]。

自从 Cai 等报道了紫外光激发 TiO_2 对癌细胞具有抑制和杀伤作用以来, TiO_2 半导体在抗肿瘤方面的应用引起了研究者的极大兴趣^[5]。相较传统光敏剂, TiO_2 无毒、价廉、光催化氧化活性高、耐光腐蚀且生物相容性好, 能被正常组织内的巨噬细胞吞噬, 而不易引起白细胞减少等副作用。但是, 由于 TiO_2 的带隙宽度为 3.2 eV, 仅在紫外光激发下才能引发光动力反应, 难以充分响应可见光, 这大大限制了其使用效率, 而且紫外光对人体有较大的伤害^[6-7]; 另外, TiO_2 的光生电子和空穴寿命很短, 极易复合, 存在催化效率低等问题^[8-11]; 此外, TiO_2 不具备肿瘤靶向性^[12]。尽管有关学者为提高 TiO_2 的效能, 提出了金属掺杂、非金属掺杂、贵金属沉积等改进举措, 但仍无法完全满足 TiO_2 在肿瘤精准治疗中的需求^[13-15]。

对 TiO_2 进行功能化改造, 是实现 TiO_2 安全可控、肿瘤靶向治疗的可能途径。基于此, 本文设计和制备了一种复合结构的可见光响应型磁导向纳米 TiO_2 光敏剂 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$, 对其结构进行了表征和分析, 并考察了其对于 A549 人肺癌细胞的体外杀伤效应。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

硫酸亚铁、三氯化铁、正硅酸乙酯, AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 无水乙醇, AR, 天津市永大化学试剂有限公司; 氢氧化钠、乙二醇、硅酸钠, AR, 国药集团化学试剂有限公司; 四氯化钛, CP, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 浓氨水, AR, 莱阳经济技术开发区精细化工厂; A549 人肺癌细胞, 上海剑钝生物科技有限公司; DMEM 型商品化培养液, 美国 Gibco 公司; 蒸馏水自制。

HSX-F300 型氙灯平行光源, 北京纽比特科技有限公司; Atom-Scan-2000 型电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP-AES), 美国 Jarrel-Asm 公司; Tecnai G2 F20 型场发射透射电子显微镜, 美国 FEI 公司; MPMS-XL-7 型超导量子干涉仪, 美国 Quantum Design 公司; TD-3500 型多晶粉末 X 射线衍射仪, 丹东通达公司; UV-2450PC 型紫外-可见分光光度计, 日本 Shimadzu 公司; iMark 型酶联免疫检测仪, 美国 Bio-Rad 公司。

1.2 制备

(1) 将 1.67 g (6 mmol) 硫酸亚铁和 1.95 g (12 mmol) 三氯化铁用蒸馏水配成 200 mL 混合溶液, 加入 10 mL 乙二醇, 在氩气保护和搅拌条件下, 用氢氧化钠调节 pH=10, 反应完毕, 磁分离, 过滤, 固体用蒸馏水洗涤 3 次, 真空干燥 45℃, 得 Fe_3O_4 黑色固体粉末。

(2) 将上述 Fe_3O_4 粉末在搅拌下分散于 pH=11 的 100 mL 1 g/L 的硅酸钠水溶液中, 升温至 80℃, 反应 4 h, 磁分离出固体产物, 用无水乙醇洗涤 3 次。参照 Stöber 法^[16]向此固体产物中加入 125 mL 无水乙醇和 15 mL 正硅酸乙酯, 连续搅拌下用浓氨水调节 pH=8, 继续搅拌 5 h, 磁力沉降, 过滤, 固体用蒸馏水洗涤 3 次, 65℃干燥, 得 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 固体粉末。

(3) 室温下, 将 1.5 mL TiCl_4 缓慢滴加到 15 mL 乙醇中, 超声处理, 得均匀透明淡黄色溶液。将该溶液在密闭环境中静置 6 h, 胶化, 得溶胶。向其中加入 2 g $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 并混匀, 80℃热处理除去溶剂得干凝胶, 以 5℃/min 的速率升温至 440℃, 焙烧 3 h, 所得固体粉末即为终产物 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 。经 ICP-AES 元素分析测定, 所得 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 中 TiO_2 的负载量为质量分数 29.7%。

1.3 表征与测试

1.3.1 纳米复合光敏剂的表征

样品的 X 射线衍射测试采用 $\text{Cu K}\alpha$ 为辐射源, 管电压 35 kV, 管电流 25 mA, 扫描速度 0.2 (°)/s, 扫描范围 5°~80°, 采用连续扫描方式。透射电镜照片在透射电子显微镜上拍摄, 点分辨率 0.24 nm, 线分辨率 0.14 nm, 加速电压 80 kV。紫外-可见漫反射测试在紫外-可见分光光度计上进行, 以高纯硫酸钡固体粉末为标准试剂, 测量波长范围为 220~800 nm。磁性能测试在超导量子干涉仪上进行, 操作条件为室温。

1.3.2 纳米复合光敏剂对人癌细胞的光动力灭活能力测定

实验在无菌室及无菌洁净操作台中进行。以 A549 人肺癌细胞作为受试细胞, 经过传代培养后收集对数期的癌细胞, 制成细胞浓度为 1×10^6 cells/mL 的单细胞悬液。取 1 mL 单细胞悬液分别接种于 96 孔板相应的孔中, 置于 CO_2 培养箱中孵育, 待细胞贴壁生长后, 弃去原培养液, 在每孔中分别加入等量新培养液, 光敏剂孔、光动力实验孔中同时加入 200 μg 光敏剂, 然后进行分组实验。实验分成对照组和实验组, 即空白对照组、光照空白对照组、复合光敏剂对照组、 TiO_2 +光照对照组、复合光敏剂+光照实验组。每组细胞设 5 个平行孔对照, 重复实验 3 次。实验光源为 300 W 氙灯, 光距 30 cm。采用四甲基偶氮唑蓝比色法 (MTT 法)^[17-19], 在 Bio-Rad iMark 酶联免疫检测仪上测定 490 nm 处每孔的吸光度, 计算细胞抑制率。其原理为: 活细胞内线粒体琥珀酸脱氢酶能将淡黄色的 MTT 还原成蓝紫色的 formazan 结晶, formazan 的产量仅与活细胞数目成正比, formazan 溶液吸光度正比于活细胞数目。细胞抑制率 (CIR) 的计算公式为:

$$\text{CIR}/\% = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

式中: A 为被测试样组吸光度平均值; A_0 为空白对照组吸光度平均值。

2 结果与讨论

2.1 XRD 分析

Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的 XRD 图见图 1。由图 1 可知, 在 $2\theta=30.2^\circ$ 、 35.6° 、 43.3° 、 53.8° 、 57.3° 和 63.0° 处出现 Fe_3O_4 的特征衍射峰。在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的 XRD 谱图中, 除了 Fe_3O_4 的特征峰外,

在 $2\theta=20^\circ\sim 34^\circ$ 内出现了较大的峰包, 这是非晶 SiO_2 和玻璃体物质的特征衍射峰; 与单纯 Fe_3O_4 相比, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 中 Fe_3O_4 的特征衍射峰强度有所减弱, 证实 Fe_3O_4 的表面包覆了一层无定型结构 SiO_2 。从 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的 XRD 图可知, 在 $2\theta=25.4^\circ$ 、 37.9° 、 48.2° 、 54.1° 、 55.2° 、 62.9° 处出现的峰分别归属于锐钛矿 TiO_2 的 (101)、(004)、(200)、(105)、(211)、(204) 的特征峰, Fe_3O_4 和 SiO_2 的特征峰有所减弱, 说明 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 表面包覆了一层 TiO_2 , 且以光催化活性较高的锐钛矿相存在。

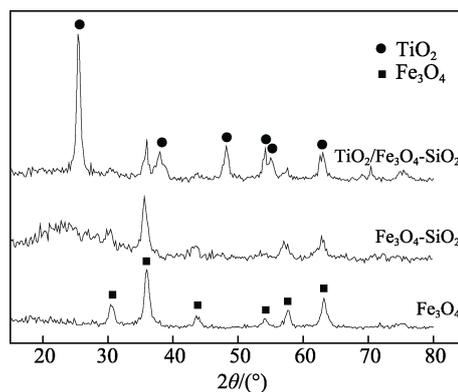


图 1 Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的 XRD 谱图
Fig. 1 XRD patterns of Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ and $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$

2.2 TEM 分析

Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的 TEM 图见图 2。由图 2 可知, Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的外观近似球形, 粒径依次递增, 平均粒径分别约为 18、31 和 42 nm, 且 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 具有核壳结构, 说明 SiO_2 和 TiO_2 均依次成功包覆。

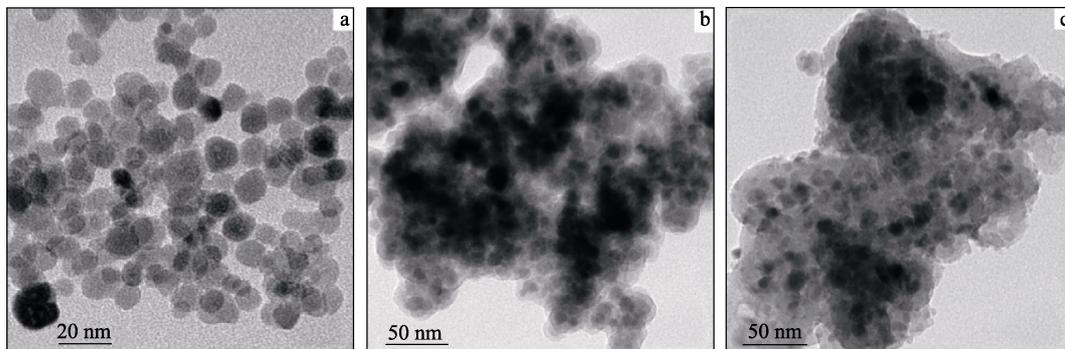


图 2 Fe_3O_4 (a)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ (b) 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ (c) 的 TEM 图
Fig. 2 TEM images of Fe_3O_4 (a), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ (b) and $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ (c)

2.3 磁性能分析

利用超导量子干涉仪分析样品的磁性能。室温时, Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 纳米粒的

磁滞回线见图 3。由图 3 可知, 三者磁滞回线均呈现近似为一条过原点的 S 型曲线, 磁化过程中基本没有磁滞现象, 矫顽力和剩磁几乎可以忽略, 表现

出超顺磁性,三者最大比饱和磁化强度分别为 38.83、12.03、7.10 emu/g。尽管 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 仍存在少量剩磁和矫顽力,且其最大比饱和磁化强度数值较小,但仍表现出一定的超顺磁性。即在超顺磁性状态下,热运动能量足以克服纳米粒子之间的磁偶极相互作用,使纳米粒子在没有外加磁场的条件下不会因磁偶极相互作用而发生团聚,当赋予外加磁场时能实现磁导航和定位,这是其生物靶向应用的重要前提。

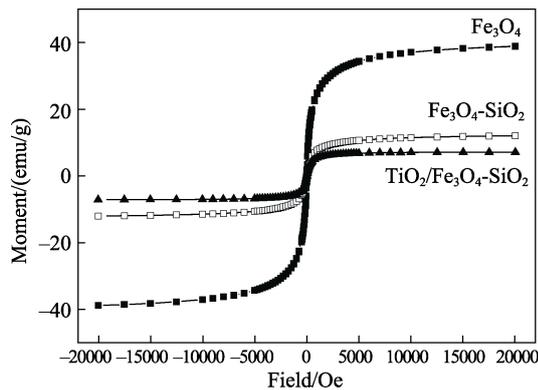


图 3 Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的磁滞回线
Fig. 3 Hysteresis loops of Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ and $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$

2.4 UV-vis 分析

为分析 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的紫外-可见吸收性能,并与纳米 TiO_2 作比较,分别对 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 TiO_2 进行了紫外-可见漫反射吸收光谱 (UV-vis DRS) 分析,结果见图 4,将 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 磁核的 UV-vis DRS 曲线也列于图 4 中。由图 4 可知,锐钛矿型纳米 TiO_2 对光波的吸收范围主要集中在紫外光区,对超过 400 nm 的可见光区域几乎没有吸收,因而难以响应可见光。但是,由于 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 磁核能够响应 400~700 nm 范围的可见光,因此,磁核的引入不仅使 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 复合光敏剂的吸收曲线位于 TiO_2 吸收曲线上方,而且可使其吸收边界拓展至 700 nm 左右。

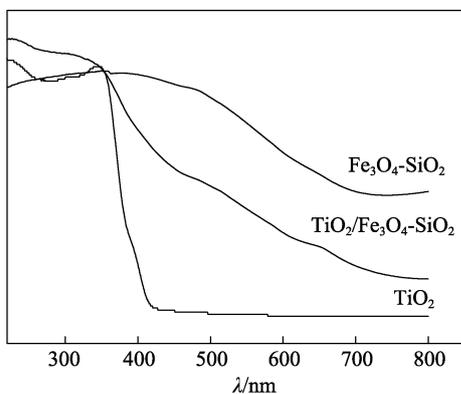


图 4 TiO_2 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的 UV-vis DRS 光谱图

Fig. 4 UV-vis DRS spectra of TiO_2 , $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ and $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$

所以, $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 复合光敏剂具有增强的光吸收强度和显著的可见光吸收性能,有利于光动力活性的提高。

2.5 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 对人癌细胞的光动力灭活能力评价

实验表明,体外条件下,单独纳米复合光敏剂 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 对 A549 人肺癌细胞存活抑制率不超过 5%,基本无影响。单独光照虽然对细胞产生一定的杀伤作用,但杀伤作用较低,光照 150 min 的总抑制率低于 10%。体外条件下纳米复合光敏剂与单纯纳米 TiO_2 对 A549 人肺癌细胞增殖的抑制率与光照时间的关系见图 5。

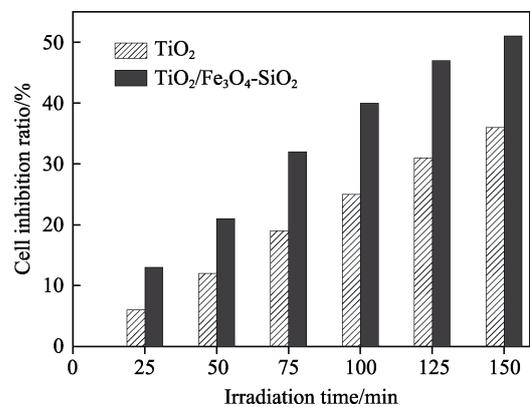


图 5 TiO_2 和 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 对人肺癌细胞的光动力杀伤效应对比

Fig. 5 Comparison of photodynamic effects of TiO_2 and $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ on human lung cancer cells

由图 5 可知,纳米复合光敏剂光照实验组在各个时间点均对人肺癌细胞具有明显的光动力杀伤活性,并且与作用时间成正比。与纳米 TiO_2 光照组对照分析可知,在各个时间点上,纳米复合光敏剂的光动力灭活效果均优于纳米 TiO_2 ;当光照时间为 150 min 时,该纳米复合光敏剂和单纯纳米 TiO_2 对 A549 人肺癌细胞增殖的抑制率分别为 51%和 36%,纳米复合光敏剂具有显著的光动力医学灭癌活性。这主要得益于其对 400 nm 以上的可见光产生了增强的拓展吸收作用,充分利用了可见光,提高了对人肺癌细胞的光动力杀伤性能。

为了进一步研究 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 中 TiO_2 的负载量与 A549 人肺癌细胞增殖的抑制率关系,在制备 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的过程中,仅通过改变 TiCl_4 体积的方式制备了系列 TiO_2 含量的 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$,其对 A549 人肺癌细胞增殖的抑制率(光照 150 min)如图 6 所示。由图 6 可见,尽管 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 中 TiO_2 的负载量对 A549 人肺癌细胞增殖抑制率的影响波动范围不大,但仍呈现出明显的规律性,即随着 TiO_2 含量的增加, $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 的光动力灭活性能先

逐渐提高, 而后有所下降。因而, TiO_2 的适宜负载量为质量分数 30%。

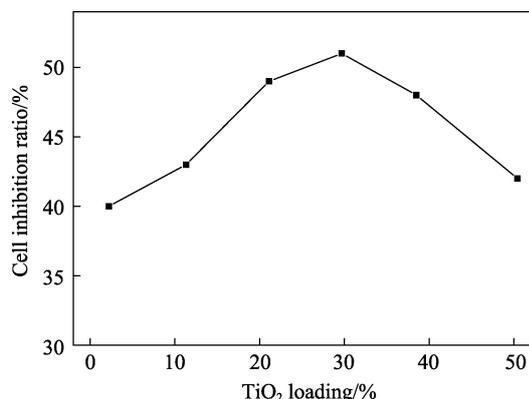


图 6 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 中 TiO_2 的负载量对人肺癌细胞的光动力杀伤效应影响

Fig. 6 Photodynamic effects of TiO_2 loading in $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ on human lung cancer cells

3 结论

(1) 利用沉淀、Stöber、溶胶-凝胶法制备了纳米复合光敏剂 $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 。

(2) XRD 和 TEM 结果表明, 该纳米复合光敏剂具有核壳结构; 磁性测试结果表明, $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 具有良好的磁响应性, 最大比饱和磁化强度为 7.10 emu/g ; UV-vis 分析表明, $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ 具有可见光吸收能力, 能充分响应波长在 400 nm 以上的可见光。

(3) 体外条件下, 当光照时间为 150 min 时, TiO_2 负载量为质量分数 30% 的纳米复合光敏剂对 A549 人肺癌细胞增殖的抑制率可达 51%, 与单纯 TiO_2 相比, 该纳米复合光敏剂具有显著增强的光动力抗癌活性, 是一种很有应用前景的抗癌光敏剂。

参考文献:

- [1] Pritchard-Jones K, Bergeron C, Camargo B, *et al.* Omission of doxorubicin from the treatment of stage II~III, intermediate-risk Wilms' tumour (SIOP WT 2001): an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2015, 386(9999): 1156-1164.
- [2] Li J H, Chen Z Q, Huang Z, *et al.* In vitro study of low intensity ultrasound combined with different doses of PDT: effects on C6 glioma cells[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(2): 702-706.
- [3] Er O, Lambrecht F Y, Ocakoglu K, *et al.* Primary evaluation of a nickel-chlorophyll derivative as a multimodality agent for tumor imaging and photodynamic therapy[J]. *J Radioanal Nucl Ch*, 2015, 306(1): 155-163.
- [4] Chekulayeva L V, Chekulayev V A, Shevchuk I N. Active oxygen intermediates in the degradation of hematoporphyrin derivative in tumor cells subjected to photodynamic therapy [J]. *J Photoch Photobio B*, 2008, 93(2): 94-107.
- [5] Cai R, Hashimoto K, Itoh K, *et al.* Photokilling of malignant cells with ultrafine TiO_2 powder[J]. *B Chem Soc Jpn*, 1991, 64(4): 1268-1273.
- [6] Wang Ling (王玲), Li Sha (李莎), Zhang Aiping (张爱平). Synthesis and characterization of $\text{TiO}_2/\text{N-succinyl-chitosan}$ composite [J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2016, 33(3): 277-282.
- [7] Tong T, Shereef A, Wu J, *et al.* Effects of material morphology on the phototoxicity of nano- TiO_2 to bacteria[J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 12486-12495.
- [8] Nir B, David S, Jeana S, *et al.* Enhanced inactivation of *E. coli* bacteria using immobilized porous TiO_2 photoelectrocatalysis[J]. *Electrochim Acta*, 2009, 54: 3381-3386.
- [9] Shu C L, Lintang H O, Yuliati L. High photocatalytic activity of $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$ nanocomposites prepared by photodeposition for degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid[J]. *Beilstein J Nanotechnol*, 2017, 8: 915-926.
- [10] Alsharaeh E H, Bora T, Soliman A, *et al.* Sol-gel-assisted microwave-derived synthesis of anatase $\text{Ag/TiO}_2/\text{GO}$ nanohybrids toward efficient visible light phenol degradation[J]. *Catalysts*, 2017, 7(5): 133-143.
- [11] Liu J, Han L, An N, *et al.* Enhanced visible-light photocatalytic activity of carbonate-doped anatase TiO_2 based on the electron-withdrawing bidentate carboxylate linkage[J]. *Appl Catal B*, 2017, 202: 642-652.
- [12] Bahng S H, Kwon N H, Kim H C, *et al.* Simple synthesis of water-dispersible and photoactive titanium dioxide nanoparticles using functionalized poly (ethylene oxide)s[J]. *Macromol Res*, 2014, 22(4): 445-456.
- [13] Abdulla-Al-Mamun M, Kusumoto Y, Ahmmad B, *et al.* Photocatalytic cancer (HeLa) cell-killing enhanced with Cu-TiO_2 nanocomposite[J]. *Top Catal*, 2010, 53: 571-577.
- [14] Asahi R, Morikawa T, Ohwaki T, *et al.* Visible-light photocatalysis in nitrogen-doped titanium oxides[J]. *Science*, 2001, 293: 269-271.
- [15] Liu L, Miao P, Xu Y, *et al.* Study of Pt/TiO_2 nanocomposite for cancer-cell treatment[J]. *J Photoch Photobio B*, 2010, 98: 207-210.
- [16] Deng Y, Cai Y, Sun Z, *et al.* Magnetically responsive ordered mesoporous materials: a burgeoning family of functional composite nanomaterials[J]. *Chem Phys Lett*, 2011, 510: 1-13.
- [17] Wei Yan (魏彦), Chen Wei (陈伟), Wang Yu (王玉), *et al.* Photoinhibition on liver cancer cell of amphiphilic phthalocyanine zinc[J]. *Imag Sci Photochem (影像科学与光化学)*, 2010, 28(5): 362-367.
- [18] Krestyn E, Kolarova H, Bajgar R, *et al.* Photodynamic properties of ZnTPPS_4 , ClAlPcS_2 and ALA in human melanoma G361 cells[J]. *Toxicol in Vitro*, 2010, 24(1): 286-291.
- [19] Rehman F U, Zhao C, Jiang H, *et al.* Protective effect of TiO_2 nanowhiskers on tetra sulphonatophenyl porphyrin (TSPP) complexes induced oxidative stress during photodynamic therapy[J]. *Photodiagn Photodyn*, 2016, 13: 267-275.