

2025年臺灣國際科學展覽會

優勝作品專輯

作品編號	030014
參展科別	化學
作品名稱	金屬多酚配位奈米載體合成與多功能腫瘤治療 法開發
得獎獎項	二等獎 加拿大科學展覽會 CWSF

就讀學校	臺北市立第一女子高級中學
指導教師	姚月雲 張家耀
作者姓名	羅庭宣 林昕儀

關鍵詞	<u>腫瘤協同治療、奈米載體、金屬多酚配位</u>
-----	---------------------------

作者簡介



我們是北一女中數資班的羅庭宣、林昕儀，有幸能進入實驗室開始化學研究，接觸到平時無法接觸的實驗，並從其中體會到研究的樂趣和辛苦，從一開始的懵懵懂懂，至後面熟悉的操作，我們特別感謝張家耀教授、學長姐，讓我們能在遇到各種問題後，還是能完成實驗，也感謝月雲老師，一直幫助、鼓勵我們，讓高中生涯留下精彩的記憶。

2025 年臺灣國際科學展覽會

研究報告

區別：北區

科別：化學科

作品名稱：金屬多酚配位奈米載體合成與多功能腫瘤治療法開發

關鍵詞：腫瘤協同治療、奈米載體、金屬多酚配位

編號：

摘要

本研究結合奈米合成技術與生物醫學，利用表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG) 作為載體，調控摻雜 $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{3+}$ 與 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 之含量，並以 π - π 交互作用力附載缺氧性抗癌藥物替拉扎明 (Tirapazamine, TPZ)，成功製備出多功能金屬多酚配位奈米顆粒簡稱為 EFeCuTPZ。

材料經紫外-可見光譜 (UV-vis)、動態光散射 (DLS) 及掃描式電子顯微鏡 (SEM) 確認其粒徑大小、形貌學與穩定性。利用 808 nm 和 671 nm 雷射分析其光熱轉換效率，評估光熱療法效果。在腫瘤微酸性環境下，EFeCuTPZ 可利用高濃度之 H_2O_2 行芬頓反應 (Fenton Reaction) 產生高活性之氫氧自由基 ($\cdot\text{OH}$)，展現化學動力療法 (Chemo dynamic-therapy, CDT)。同時，藉由材料中的 Cu^{2+} 與腫瘤環境中的穀胱甘肽 (Glutathione, GSH) 反應減少高活性物質 (Reactive oxygen species, ROS) 的消耗，增強 CDT 之療效。酸性條件下，TPZ 顯著釋放，有助於腫瘤治療。

另外，細胞實驗顯示 EFeCuTPZ 具有高生物相容性與治療效果，成功開發出具 CDT、CT 及 PTT 功能之奈米複合材料，為醫學新興藥物材料提供可能性。

abstract

This study integrates nanotechnology with biomedical applications by utilizing epigallocatechin gallate (EGCG) as a carrier to regulate the incorporation of $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{3+}$ and $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ions and to load the hypoxia-activated anticancer drug tirapazamine (TPZ) via π - π interactions. This synthesis yields multifunctional metal-polyphenol coordination nanoparticles, designated as EFeCuTPZ.

Particle size, morphology, and stability of EFeCuTPZ were verified through UV-vis spectroscopy, dynamic light scattering (DLS), and scanning electron microscopy (SEM). Photothermal conversion efficiency was tested with 808 nm and 671 nm lasers to evaluate photothermal therapy (PTT) capabilities. In the acidic tumor microenvironment, EFeCuTPZ leverages high H_2O_2 concentrations to initiate the Fenton reaction, generating hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$) for chemo-dynamic therapy (CDT). Additionally, Cu^{2+} ions within the material react with glutathione (GSH) in the tumor environment, reducing reactive oxygen species (ROS) consumption and further boosting CDT efficiency. TPZ is released significantly under acidic conditions, supporting enhanced tumor treatment.

Cellular experiments demonstrated that EFeCuTPZ exhibits high biocompatibility and strong therapeutic efficacy. This study successfully develops a multifunctional nanocomposite with CDT, CT, and PTT properties, presenting new opportunities for innovative cancer drug delivery materials.

壹、前言

一、研究動機

癌症作為當今人類健康的主要威脅之一，其治療方法一直是醫學研究的重點。傳統的化療雖廣泛應用，但面臨著諸多挑戰，如藥物耐受性、不可逆的組織損傷以及嚴重的副作用等。這些問題促使研究人員積極探索新型治療策略和材料，以期開發出更有效且副作用更小的癌症治療方法。

奈米醫學的興起為癌症治療帶來了新的希望。其中，增強滲透與滯留效應 (Enhanced Permeability and Retention effect, EPR 效應) 是一個關鍵概念。這種效應使得特定尺寸和形態的奈米顆粒更容易在腫瘤組織中累積，而非正常組織。這一特性使奈米生醫材料在癌症治療和影像學診斷中展現出顯著優勢，凸顯了奈米技術在醫學領域的巨大潛力。

將奈米材料與生物醫藥相結合，為癌症患者提供了創新的治療選擇。這些奈米材料通常具有低毒性和高生物相容性，可以通過與不同功能分子的結合，同時實現多重功能，如藥物載體、靶向治療、病理追蹤和控制藥物釋放等。

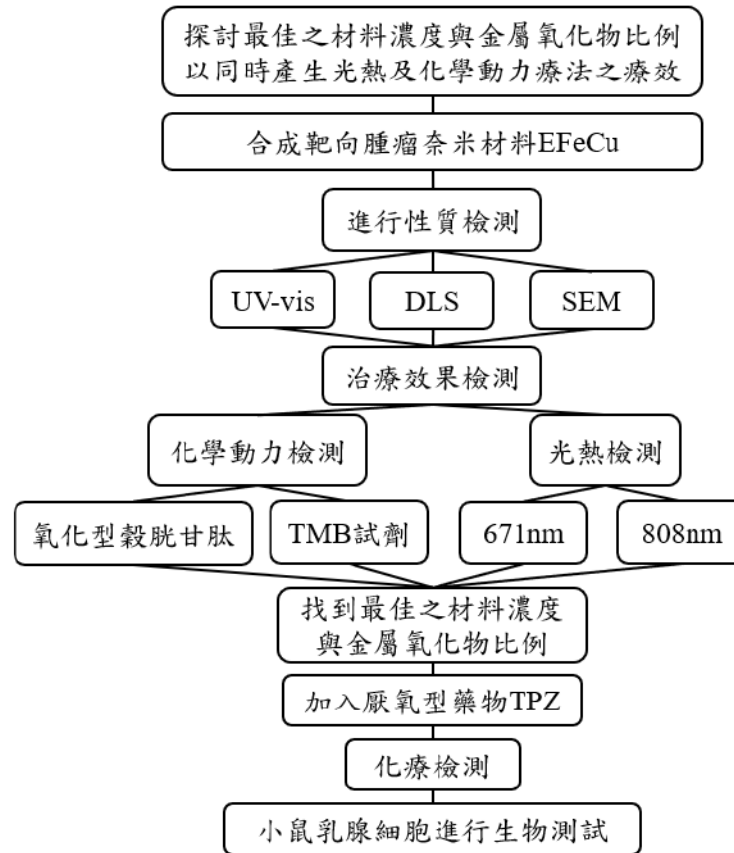
表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (EGCG) 是綠茶中最豐富的多酚類化合物之一。大量研究證實，EGCG 不僅具有多種生物學益處，還能與抗癌藥物協同作用，增強其誘導癌細胞凋亡的能力，同時減輕藥物的副作用。基於這些優勢，本研究選擇 EGCG 作為前體，旨在合成具有靶向癌細胞能力的奈米顆粒，為癌症治療開闢新的途徑。

二、研究目的

- (一) 合成 EFeCuTPZ 奈米顆粒-利用 EGCG 作為多酚配位基團，結合鐵、銅離子及抗癌藥物，合成靶向腫瘤的 EFeCuTPZ 奈米材料。
- (二) 探討 EFeCuTPZ 奈米材料的物理化學性質與穩定性。
- (三) 在固定波長和功率的雷射激光照射下，測量並比較不同金屬離子比例的 EFeCuTPZ 奈米顆粒的升溫效果。
- (四) 使用固定波長和功率的雷射激光，評估固定金屬離子比例和濃度的 EFeCuTPZ 奈米顆粒的光熱轉換效率。
- (五) 研究化學動力學特性-測量不同條件下 EFeCuTPZ 的芬頓反應能力，評估 ROS 產生效率。
- (六) 確定 EFeCuTPZ 最佳濃度和金屬離子比例，實現光熱療法和化學動力學療法的協同效果；檢測 TPZ 藥物釋放能力，加入化學療法之效果。
- (七) 以細胞實驗檢測 EFeCuTPZ 之細胞相容性以及實際協同治療效果。

貳、研究方法或過程

一、研究架構圖



二、研究設備與器材

(一) 設備與儀器

離心機、Laser-808、電子秤重儀、Pipette 定量吸管、UV-vis、震動水槽、凍乾機、加熱旋轉攪拌器、紫外-可見光光譜儀、掃描式電子顯微鏡、奈米粒徑及介面電位量測儀(DLS & zeta potential)、多功能光譜分析儀 ELISA reader、FTIR 傅立葉轉換紅外線光譜儀

(二) 藥品

氯化銅、三乙胺 (N,N-Diethylethanamine, TEA)、磷酸鹽緩衝液 (PBS)、甲醛 (HCHO)、三甲基硼 (TMB)、氯化鐵、替拉扎明 (TPZ)、過氧化氫、埃爾曼試劑 (DTNB)、表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG)

三、研究原理與方法：

(一) 多功奈米複合材料協同治療

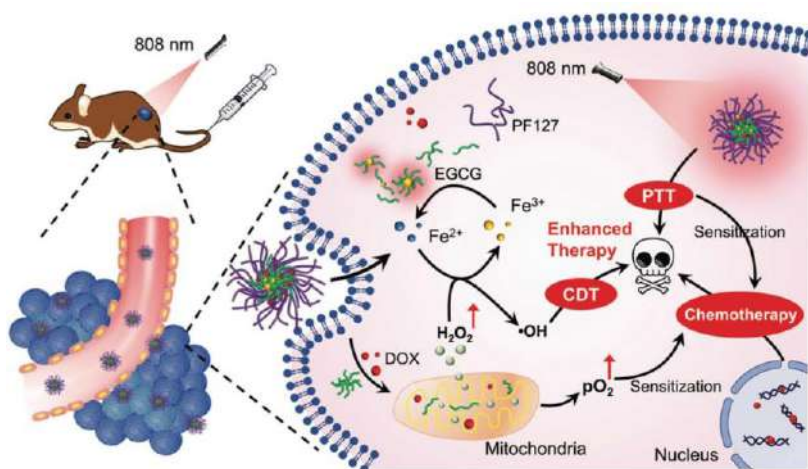


圖 1. 理想反應機制 (參考資料六)

圖 1 展示了本研究中材料的理想反應機制，其中包含三種治療方法：光熱治療 (Photothermal Therapy, PTT)、化學動力療法 (Chemodynamic Therapy, CDT) 和化學療法 (Chemotherapy, CT)。腫瘤微環境 (Tumor Microenvironment, TME) 具有多種獨特特徵，如弱酸性環境、缺氧 (Hypoxia)、發炎 (Inflammation) 以及過量的過氧化氫 (H₂O₂) 生成。腫瘤缺氧是大多數實體瘤的典型特徵，這種狀態是由於腫瘤細胞快速增殖和低效的微血管系統，導致氧氣消耗與攝取之間的失衡。一般腫瘤中的 H₂O₂ 濃度約為 50~100 μM，這一過量的 H₂O₂ 可以用來釋放或產生內源性的氧氣 (O₂)，以促進氧敏感性癌症的治療效果。

在本研究中，腫瘤內的 H₂O₂ 可通過亞鐵 (Fe²⁺) 和亞銅 (Cu⁺) 離子的催化氧化，轉化為高活性的羥基自由基 (•OH)，從而表現出 CDT 的治療效果。另一方面，鐵和銅離子還能將 H₂O₂ 轉化為氧氣分子，這不僅可以改善腫瘤微環境中的缺氧狀態，還能增強化學療法 (CT) 的效果，抑制癌細胞的生長和轉移，有望克服長期以來癌症治療中的主要障礙。

同時，在近紅外光照射下，材料的溫度上升，可以直接消滅癌細胞，這屬於光熱治療 (PTT) 的範疇。最後，通過鐵和銅離子的還原作用，將腫瘤中的谷胱甘肽 (GSH) 氧化為氧化型穀胱甘肽 (GSSG)，從而提升化學動力療法和化學療法的治療效果，進一步加強對腫瘤的抑制作用。

(二) 表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG)

表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG) 是綠茶中最豐富的兒茶素。除了其已知的抗氧化和抗炎作用外，近年來 EGCG 在癌症治療領域也展現了潛在的應用價值。EGCG 在化療中的應用主要體現在以下幾個方面：

協助奈米載體合成：EGCG 可作為還原劑和穩定劑，參與金屬奈米粒子的綠色合成。這些奈米載體可以提高化療藥物的靶向性和生物利用度，有助於提升藥物的療效，減少對正常細胞的損害。

調節粒線體功能：EGCG 能夠進入粒線體，抑制呼吸鏈複合物的活性，從而減少腫瘤細胞的氧氣消耗。這一作用可能有助於增加腫瘤微環境中的氧氣濃度，緩解腫瘤缺氧狀態，使腫瘤對 Tirapazamine (TPZ) 這類需要依賴低氧環境的藥物更加敏感。

增強化療藥物效果：以 TPZ 為例，TPZ 是一種具有選擇性的缺氧細胞毒劑，在腫瘤缺氧環境下可被還原生成活性形式，進一步造成 DNA 損傷。EGCG 通過減少腫瘤中的氧氣消耗，可以促進 TPZ 在腫瘤內的活化，從而提高其化學動力學治療 (Chemodynamic Therapy, CDT) 的效果。CDT 是一種利用腫瘤微環境中過氧化氫產生高活性羥基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 來殺傷癌細胞的治療策略。

減輕化療副作用：一些研究表明，EGCG 可能有助於減輕化療引起的心臟毒性和神經毒性，這可能與其強效的抗氧化和抗炎作用有關。此外，EGCG 的抗炎作用可能也有助於減輕由 TPZ 等藥物引發的副作用，從而提高患者的耐受性和生活質量。

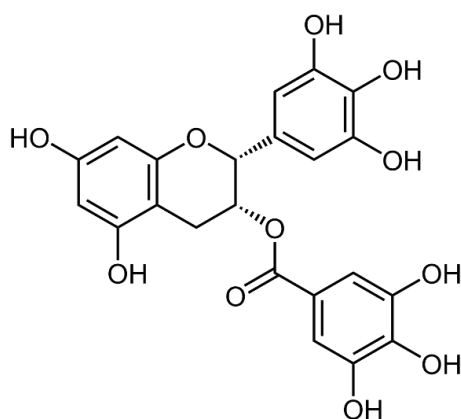


圖 2. EGCG 結構式 (第一作者繪製)

(三) 腫瘤微環境 (Tumor microenvironment, TME)

腫瘤微環境 (Tumor microenvironment, TME) 是指腫瘤細胞和周圍的正常細胞共同組成的複雜環境，腫瘤細胞、免疫細胞、纖維母細胞、血管內皮細胞、細胞外基質等各種組織和因子。如圖 3。

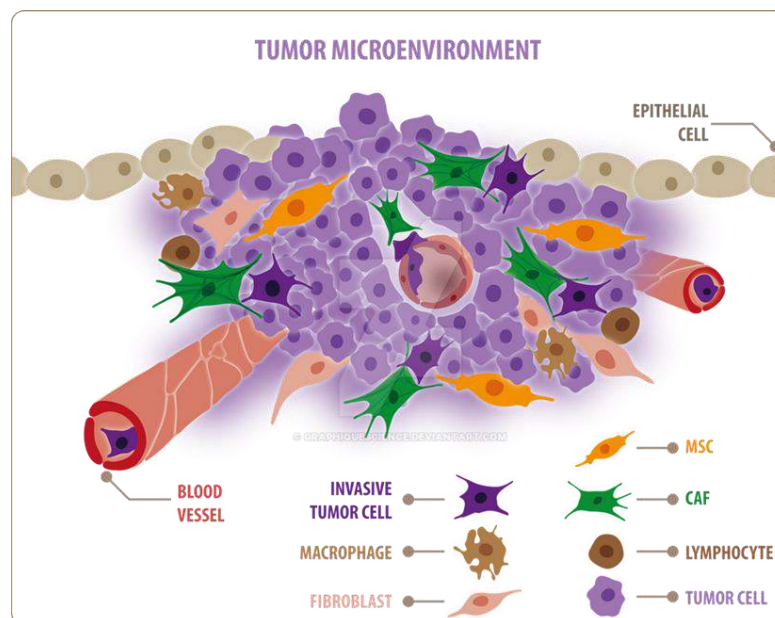


圖 3. 腫瘤微環境示意圖 (參考資料七)

這些組成部分不僅影響腫瘤的生長、侵襲和轉移，也在腫瘤對治療的反應中扮演重要角色。腫瘤細胞會通過分泌不同的因子來改變微環境，刺激血管生成，抑制免疫系統，並改變腫瘤內的代謝狀態，使腫瘤細胞在 TME 中得以快速增殖，進一步抵抗外界治療。

TME 中的細胞與結構共同作用，促進生長因子的分泌，並增加免疫抑制細胞的活性，使腫瘤細胞能夠在抑制性環境中繁殖並抵抗免疫攻擊。這種情況使得傳統治療手段往往無法達到預期效果，腫瘤對放療、化療等治療的抵抗力也因此增強。然而，TME 的這些特徵同時也為現代癌症治療，特別是奈米醫學，帶來了新的研究方向。

TME 具有一些顯著特徵，首先由於腫瘤細胞生長速度大於正常細胞，氧氣沒法以足夠量分給每個腫瘤細胞導致缺氧。接著因為腫瘤環境缺氧，腫瘤細胞會以無氧糖酵解 (巴斯德效應)，產生大量乳酸，導致微腫瘤環境成弱酸性。且乳酸氧化酶 (LOX) 在 TME 中直接消耗產生的乳酸會產生過量過氧化氫。在葡萄糖缺乏的情況下，癌細胞會進行代償性谷氨酰胺代謝以提供能，線粒體谷氨酰胺分解使腫瘤細胞能夠產生高水平的抗氧化劑 (例

如 GSH) 來逃避 ROS 引起的損傷。

這些特徵不僅限制了傳統治療的效果，也為奈米技術在腫瘤治療中的應用提供新思路。具體來說，奈米材料因其獨特的物理和化學性質，可以設計用於靶向藥物遞送、影像增強和光熱治療等應用。

(四) 光熱療法 (Photothermal therapy, PTT)

光熱療法 (Photothermal therapy, PTT) 是一種新興的癌症治療技術，透過特定材料在特定波長光照射下產生熱能來殺死癌細胞。其治療原理是將能夠吸收特定波長光並轉換為熱能的材料 (稱為光熱轉換劑) 引入腫瘤區域，隨後使用特定波長的光，通常是近紅外光來照射該區域。

光熱轉換劑會吸收近紅外光的能量並將其轉換為熱能，從而使局部腫瘤區域的溫度升高 39-45 °C。這樣的溫度足以引起癌細胞的死亡，同時對周圍健康組織的傷害相對較小。由於近紅外光 (700-1100 nm) 的波段在人體組織，如水和血紅蛋白中，具有較低的吸收和散射特性，因此能夠穿透組織達到更深層的腫瘤部位，這使得光熱療法能夠更有效地針對深層癌症進行治療，並且不會傷害到人體健康的組織。

這種療法的關鍵在於材料必須能夠在近紅外區有顯著的吸收，以便光能轉化為足夠的熱量來誘發癌細胞死亡。光熱療法的這種靶向性以及較低的副作用使其成為癌症治療研究中的熱門方向。

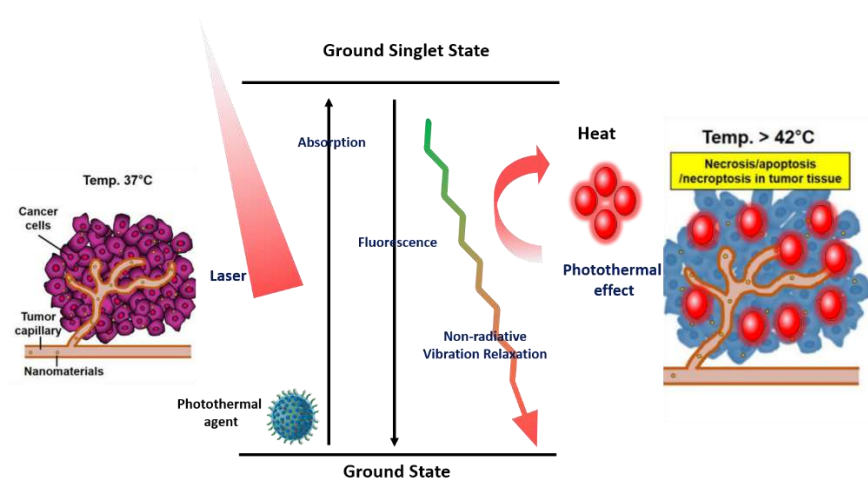


圖 4. 光熱療法反應作用 (Biomedicines 2021, 9(3), 305)

在我們的研究中，金屬多酚配位奈米顆粒 (EFeCuTPZ) 作為光熱轉換劑，展現出多項優勢。首先，這些奈米顆粒具有優異的靶向性，利用表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (EGCG) 作為配位基團，增強了奈米顆粒對腫瘤組織的靶向作用，提高了治療的特異性。此外，金屬離子如 Fe^{3+} 和 Cu^{2+} 與多酚配位形成的奈米顆粒在近紅外光區具有良好的光熱轉換效率，提升了光熱療法的效能。

這些奈米顆粒還具備多功能性，除了光熱效應外，它們可能通過芬頓反應產生活性氧，從而產生化學動力學治療效果，實現協同治療的目的。另一方面，這些顆粒性能是可調控的，通過調節金屬離子的比例和濃度，可以優化其光熱轉換效能。

最後，EFeCuTPZ 奈米顆粒也可作為藥物載體，能夠攜帶抗癌藥物如 TPZ，實現藥物的靶向輸送，進一步提高治療的精確性和效果。

(五) 化學動力治療 (Chemodynamic Therapy, CDT)

化學動力治療 (Chemodynamic Therapy, CDT) 是一種新興的微創癌症治療方法，如圖所示，其核心機制是利用腫瘤內的內源性過氧化氫 (H_2O_2)，通過細胞內的芬頓反應或類芬頓反應生成高毒性的羥基自由基 ($\cdot\text{OH}$)。這些羥基自由基能夠破壞 DNA、使蛋白質失去活性，並導致磷脂膜過氧化，最終誘導腫瘤細胞大量凋亡。由於腫瘤組織內的 H_2O_2 含量通常高於健康組織，CDT 在腫瘤環境中具有高度選擇性，能夠有效減少對健康組織的損害。

相比於傳統的癌症治療方法，CDT 具有低侵入性、高選擇性和副作用較少等優勢。然而，提升 CDT 的臨床效果仍是當前研究中的一大挑戰。為了充分發揮其治療潛力，以下策略可以有效提高 CDT 的療效。

首先，可以通過提高腫瘤內 H_2O_2 的濃度或降低谷胱甘肽 (GSH) 的水平來增強 CDT 的效果。GSH 是細胞內的主要抗氧化劑，減少其含量可以減弱對自由基的清除作用，從而增加羥基自由基的產生，進一步強化腫瘤細胞的破壞。

其次，加強羥基自由基的生成也是提升 CDT 的一種重要方式。這可以通過引入催化劑或利用新型奈米材料來促進芬頓反應或類芬頓反應，使羥基自由基的產生更為高效，從

而提高對腫瘤細胞的殺傷能力。

最後，調節腫瘤微環境的理化特性，例如酸度或溫度，或是引入外部能量如光、磁場或超聲波，都有助於提高 CDT 的效果。這些方法能改變腫瘤內部的環境條件，促進自由基的生成與反應效率，進一步提升 CDT 的療效。

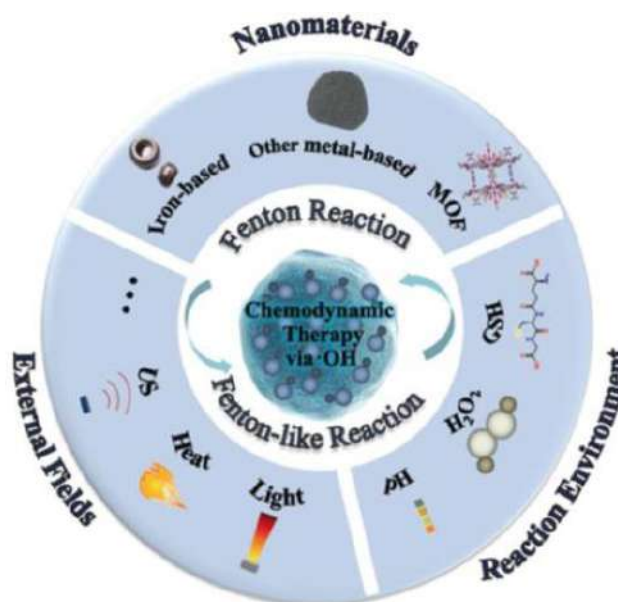


圖 5. CDT 基於芬頓或類芬頓反應 (參考資料一)

CDT 作為一種新興的微創療法，與其他依賴活性氧 (ROS) 介導的治療方式不同，其核心機制是通過芬頓反應，以腫瘤微環境 (TME) 內的過氧化氫 (H_2O_2) 生成高毒性的羥基自由基 ($\cdot\text{OH}$)，這些自由基能夠破壞 DNA 並使蛋白質失去活性，從而誘導腫瘤細胞凋亡。除了典型的鐵離子 (Fe^{2+}) 外，其他金屬離子如銅 (Cu^{2+})、鈷 (Co^{2+})、鎳 (Ni^{2+})、錳 (Mn^{2+})、鉬 (Mo^{6+})和鈦 (Ti^{4+}) 等也能通過類芬頓反應發揮催化作用，促進羥基自由基的生成。

此外，腫瘤微環境中的過量還原物質，如穀胱甘肽 (GSH)，可以促進芬頓催化劑的生成，同時避免氧化損傷對正常組織的影響，進一步提高治療的選擇性和效果。

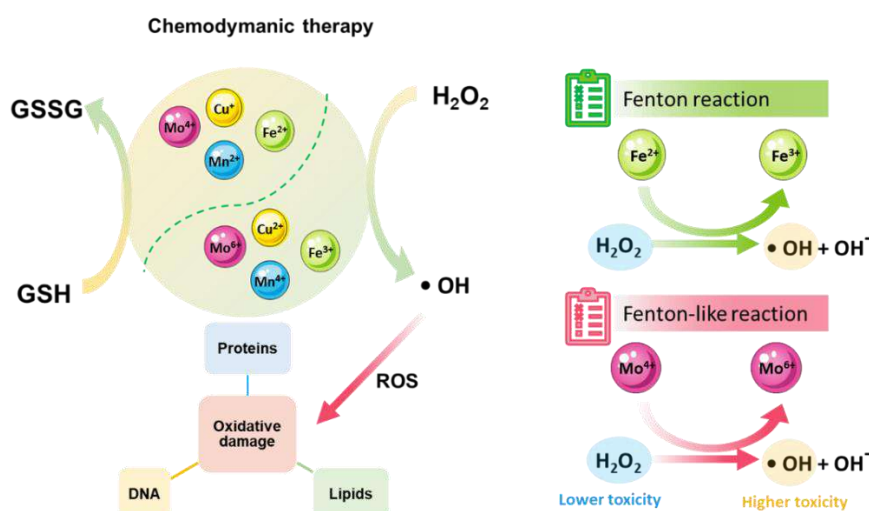


圖 6. CDT 反應機制圖 (參考資料 1)

(六) 替拉扎明 (Tirapazamine, TPZ)

替拉扎明 (Tirapazamine, TPZ) 是一種低氧選擇性細胞毒性藥物，主要針對缺氧腫瘤進行治療。這類腫瘤因內部缺氧，對傳統放療和化療耐受性較強，而 TPZ 可以在低氧環境中發揮作用，選擇性地殺死腫瘤細胞，因此成為治療缺氧腫瘤的重要潛力藥物。TPZ 的細胞毒性作用依賴於細胞內的氧化還原環境，具體的作用機制可以分為以下幾個步驟。

首先，TPZ 在細胞內的單電子還原酶 (one-electron reductase) 的作用下被還原，形成自由基型態 ($\text{TPZ}\bullet$)。這是 TPZ 發揮作用的第一步，即還原活化過程。自由基型態的 $\text{TPZ}\bullet$ 是細胞毒性作用的初始形式。

接下來，氧濃度決定了 TPZ 的後續反應。在有氧環境下， $\text{TPZ}\bullet$ 會與氧氣反應，形成超氧陰離子 (O_2^-)。這一過程會引發氧化應激，從而對細胞產生毒性，但由於氧氣的存在，這種毒性相對較弱，對腫瘤細胞的殺傷效果有限。

然而，在低氧環境下， $\text{TPZ}\bullet$ 會轉化為更具反應性的苯並三嗪基自由基 ($\text{BTZ}\bullet$)。 $\text{BTZ}\bullet$ 能夠直接攻擊細胞核中的 DNA，導致 DNA 單鏈和雙鏈的斷裂。同時，在某些酶的作用下，還會促使 DNA 脫氫氧化，進而生成羥基自由基 ($\bullet\text{OH}$)。這些高度反應性的自由基進一步加劇 DNA 的損傷，最終導致癌細胞的死亡。

TPZ 具有選擇性毒性，這是因為它在低氧環境下更容易被活化，從而對缺氧的腫瘤細胞具有更高的選擇性，而對氧氣充足的正常細胞影響較小。這一特性使得 TPZ 對於治

療缺氧腫瘤尤為有效。

為了進一步提升 TPZ 的治療效果並減少其副作用，研究者們採用了奈米載體系統。將 TPZ 裝載於特定的奈米載體中，可以顯著提高其靶向性，讓藥物更加準確地傳送至腫瘤部位，從而增強其在低氧腫瘤環境中的毒殺效果。同時，這一策略能減少 TPZ 對正常細胞和組織的損害，降低治療過程中的副作用。通過這樣的設計，TPZ 的治療效果得到了增強，並使治療過程更加具有針對性與安全性。

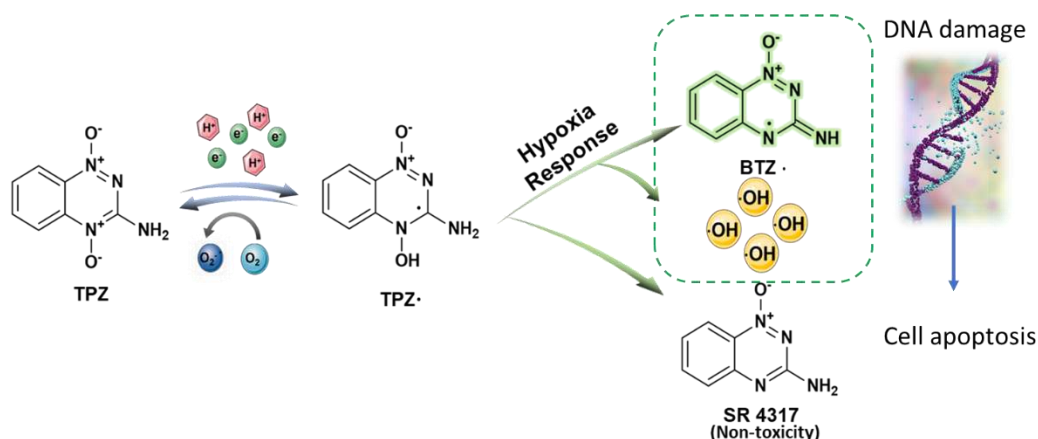


圖 7. 缺氧反應藥物-TPZ 反應機制圖 (參考資料一)

(七) 穀胱甘肽 (glutathione, GSH)

穀胱甘肽 (glutathione, GSH) 是一種由 γ -谷氨酰胺酸、半胱氨酸和甘氨酸組成的三肽分子。其中，半胱氨酸的巰基(-SH)是 GSH 的關鍵功能基團。GSH 在生物體內主要以還原型 (GSH) 和氧化型 (GSSG) 兩種形式存在。正常情況下，細胞內 GSH:GSSG 的比例維持在較高水平 (約 100:1)。

GSH 的主要生理功能包括抗氧化防禦、氧化還原信號調節、解毒作用、蛋白質修飾以及參與 DNA 合成和修復。作為一種重要的抗氧化劑，GSH 能直接清除自由基，或作為谷胱甘肽過氧化物酶的輔助因子，協助抗氧化反應的進行。此外，GSH 通過調整其與氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 的比例，來調節氧化還原敏感的信號通路，影響細胞的生理功能。在解毒方面，GSH 能與親電子化合物結合，幫助將這些有害物質排出體外，從而促進解毒過程。GSH 還能通過 S-谷胱甘肽化修飾蛋白質，調節這些蛋白質的功能和活性，進而影響細胞的生理過程。

谷胱甘肽 (GSH) 在細胞中有多種重要功能。它能直接清除自由基，或者作為谷胱甘肽過氧化物酶的輔助因子，幫助分解過氧化物，保護細胞免受氧化損傷。GSH 還能調節氧化還原平衡，影響細胞增殖與凋亡，並與毒素結合，促進其排出體外。它也能修飾蛋白質，調節其功能，並參與 DNA 的合成和修復，維持基因穩定性。這些作用協同保護細胞健康，維持其正常運作。

GSH 被稱為「抗氧化之母」，但這更多是一種通俗說法，而非嚴格的科學定義。它確實是細胞內最重要的抗氧化劑之一，但與其他抗氧化系統 (如維生素 C、E 等) 相輔相成。GSH 在維持細胞氧化還原平衡和保護機體方面發揮著重要作用。深入研究 GSH 可能為開發新的治療策略提供理論基礎。

四、實驗步驟

(一) 奈米粒子 EFeCuTPZ 之合成

1. 秤量 EGCG (55 mg) + TPZ (5 mg) + 20 ml water 加入樣品瓶中，以磁石攪拌器攪拌 10 分鐘使其均勻混合。
2. 混合過程中加入 CuCl_2 (3 mg) + FeCl_2 (7 mg)，以磁石攪拌器攪拌 10 分鐘使其均勻混合。
3. 混合過程加入 HCHO (6 μL) 合成藥物，以磁石攪拌器攪拌 10 分鐘。
4. 混合過程加入 TEA (20 μL) 用以催化，以磁石攪拌器攪拌 60 分鐘。
5. 攪拌完成後進行第一次離心 6000 rpm 15 分鐘，除去上層溶液。
6. 進行第二次離心 3000 rpm 20 分鐘，去除沉澱不反應物質。

(二) 光熱分析

1. 取 370 μL 之 200 ppm 的 EFeCuTPZ。
2. 以 808 nm, 2 W 雷射光照射材料使升溫。
3. 等材料升溫至 25 $^{\circ}\text{C}$ ，開始計時每隔 30 秒記錄溫度一次。
4. 同上述實驗，改變 EFeCuTPZ 之濃度及雷射瓦數波長。

(三) 化學動力分析

1. 取 500 μL , pH 5.5 的 PBS buffer 與 75 μL , 200 ppm EFeCuTPZ，再注入 50 μL , 50mM H_2O_2 。
2. 等待 30, 60, 120, 150, 180, 210, 240 分鐘後加入 10 μL , 50 mM TMB，以紫外-可見光光譜儀分別檢測其吸收峰。
3. 比較 ox-TMB 在 652 nm 處的吸收強度
4. 同上述實驗，更改 pH 值與濃度。

(四) 氧化谷胱甘肽分析

1. 取 500 μL , pH 7.4 的 PBS buffer 與 75 μL , 200 ppm EFeCuTPZ，再加入 15 μL , 5 mM GSH 均勻混合。
2. 放置不同時間使其反應。
3. 加入 DTNB 10 μL , 5 mM。
4. 比較 DTNB 在 300 nm 及 TNB 在 412 nm 處的吸收強度。
5. 重複上述步驟，將不同反應時間改成不同材料濃度。

(五) TPZ 藥物釋放

1. 配置 pH 5.5 與 pH 7.4 的 PBS 溶液。
2. 將定量材料放置於 3.5 kDa 的透析袋內，將透析袋放入裝有不同 pH 值的 PBS 溶液的燒杯中。
3. 經過一段時間後，吸取燒杯內的定量 PBS，並測量吸出之 PBS 的吸收值。

(六) EFe₇Cu₃TPZ 之細胞相容性測試

1. 將 96 孔盤放入無菌台內，孔內先加入培養基 100 μL ，再加入 10,000 (cell/mL)，輕晃使其分佈均勻，並放回培養箱培養 24 小時。
2. 一天後，吸出孔內的培養基，以 PBS 清洗 2 次，再重新加入新鮮的培養基。

3. 於孔洞內加入 0、50、100、150、200 ppm 的 EFeCuTPZ 10 μ L，輕晃數次均勻後，放進培養箱培養 24 小時。
4. 一天後，吸出孔內的培養基，以 PBS 清洗 2 次，再重新加入新鮮的培養基。
5. 在每個孔洞加入 WST-110 μ L。
6. 由盤式全光譜分析儀 (ELISA reader) 測量 460 nm 處的 O.D 值，最後計算出細胞存活率。

(七) 細胞體外之光熱、化學動力、化療分析

1. 將 96 孔盤放入無菌台內，孔內先加入培養基 100 μ L，再加入 10,000 (cell/mL)，輕晃使其分佈均勻，並放回培養箱培養 24 小時。
2. 靜待一天後，吸出孔內的培養基，以 PBS 清洗 2 次，再重新加入新鮮的培養基。
3. 於孔洞內加入 0、50、100、150、200 ppm 的 EFeCuTPZ 10 μ L 及 50 mM 的 H_2O_2 10 μ L，輕晃數次均勻後，放進培養箱培養 24 小時。
4. 一天後，吸出孔內含有材料的培養基，以 PBS 清洗 2 次，再重新加入新鮮的培養基，並使用 808 nm (2 W/cm^2) 雷射照射各孔洞 2 分鐘。
5. 在每個孔洞加入 WST-110 μ L。
6. 由盤式全光譜分析儀 (ELISA reader) 測量 460 nm 處的 O.D 值，最後計算出細胞存活率。

參、研究結果與討論

一、奈米材料最佳化合成方法

成功合成出 EFeCuTPZ 奈米顆粒，如圖 8。



圖 8. EFeCuTPZ 奈米材料 (本圖由第一作者拍攝)

我們成功合成出 EFeCuTPZ 奈米材料。EGCG 具有抗氧化和促凋亡作用，能抑制癌細胞增殖，而 TPZ 能在缺氧環境下破壞癌細胞，兩者合成可增強抗癌效果並減少副作用產生。加入 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 兩種金屬能使奈米顆粒兼具良好的光熱及化學動力療法之效果。

HCHO 是用於幫助生成穩定的金屬奈米顆粒或其他形式的金屬化合物，TEA 則是加速反應充分進行，並確保所有成分均勻混合。

二、探討 EFeCuTPZ 奈米材料的物理化學性質與穩定性。

(一) 光化學分析 (UV-VIS)

光譜分析結果顯示，如圖 9，純 EGCG 在 276 nm 左右呈現明顯的特徵吸收峰。當添加 Cu^{2+} 離子後，在 325 nm 附近出現 EGCG-Cu 錯合物的特徵峰，這種變化反映了金屬離子與 EGCG 分子間的螯合作用，形成了特定的三維結構。進一步添加 Fe^{3+} 離子後，在 550 nm 左右可觀察到 EGCG-Fe 錯合物的特徵吸收峰。值得注意的是， Fe^{3+} 離子的添加量與吸收峰強度呈現正相關： Fe^{3+} 離子含量越高，吸收峰越明顯。特別是在 450-750 nm 波長範圍內的吸收增強，這對於 671 nm 雷射光的應用尤為重要。在此波長照射下，奈米顆粒能夠有效吸收能量並轉化為熱能，從而實現光熱療法的效果。

圖 10 的分析結果顯示，純 TPZ 在 270 nm 和 460 nm 左右各有一個特徵吸收峰。當將合成的 EFe_7Cu_3 奈米粒子與 TPZ 結合後，不僅保留 TPZ 的特徵吸收峰，而且這些峰的強度明顯增強。這一現象表明， EFe_7Cu_3 奈米粒子成功地負載了 TPZ 分子，並可能通過相互作用增強了 TPZ 的光學特性。

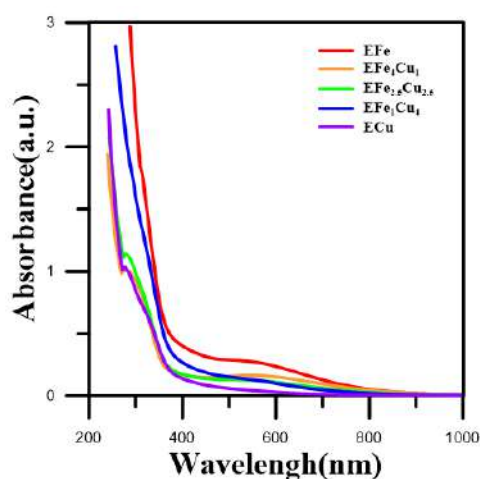


圖 9. 不同金屬比例之吸收光譜圖
(圖 9、圖 10 由第一作者繪製)

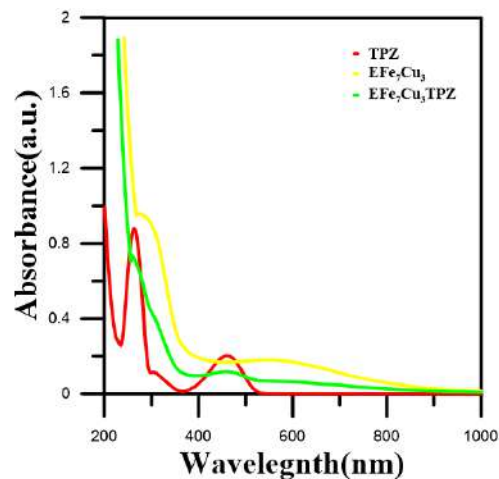


圖 10. 加入 TPZ 後吸收光譜圖

(二) 動態光散射儀 (Dynamic light scattering, DLS)

此處使用動態光散射儀 (DLS) 量測 EGCG、EFe、ECu 與 ECuFe 之平均粒徑及粒徑百分比分布趨勢。

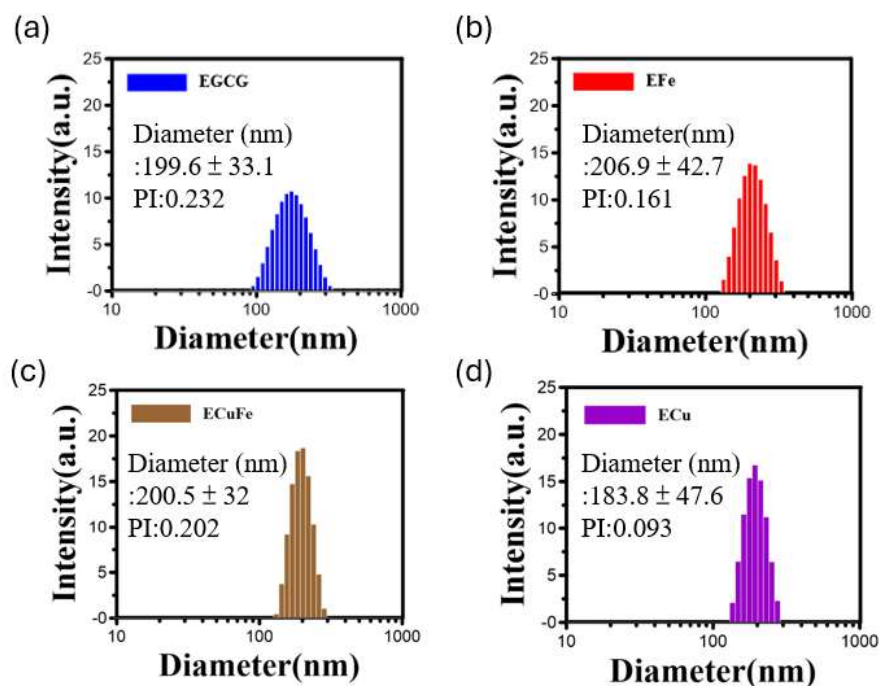


圖 11. 以 DLS 量測 (a) EGCG、(b) EFe、(c) ECu、(d) ECuFe 之平均粒徑及粒徑百分比分布趨勢 (本圖由第二作者繪製)

由圖 11 所示，Fe 或 Cu 單獨與 EGCG 鍵結時，均導致粒徑增加。然而，當同時添加 Fe 和 Cu 兩種金屬離子時，所形成的複合物粒徑大小介於僅添加單一金屬離子的情況之間。這一現象可能是由於兩種金屬離子在 EGCG 分子上的競爭性鍵結所致。

進一步分析多分散指數 (Polydispersity Index, PI) 發現，四種樣品的 PI 值均較低，表明粒徑分布峰較為集中，接近單分散分布。這一結果不僅說明了樣品的均一性，也間接證實了 EGCG 與 Fe 和 Cu 成功鍵結，並具有良好的分散性。

(三) 表面介達電位儀 (Zeta potential)

利用表面介達電位儀 (Zeta potential) 來量測 EGCG、ECu、EFe、EFeCu 與 EFeCuTPZ 的表面電位，以此判斷 EGCG 與 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 與 TPZ 是否有順利鍵結。如圖 12 所示，在起初的 EGCG 電位為 -55 mV，由於 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 帶正電，當 EGCG 與 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 相接後電位會上升，因此 ECu、EFe 電位分別變為 -42.8 與 -44.13 mV。而後同時接上 Cu^{2+} 與 Fe^{3+} 後，與 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 的結合使電位上升，因此接上金屬離子後的 EFeCu 電位上升變為 -37.6 mV。藉由 Zeta potential 測出的不同階段的材料之表面電未來判定是否有成功鍵結，所以依上述結果判斷 EGCG 與 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 與 TPZ 皆有成功鍵結形成 EFeCuTPZ 奈米粒子。

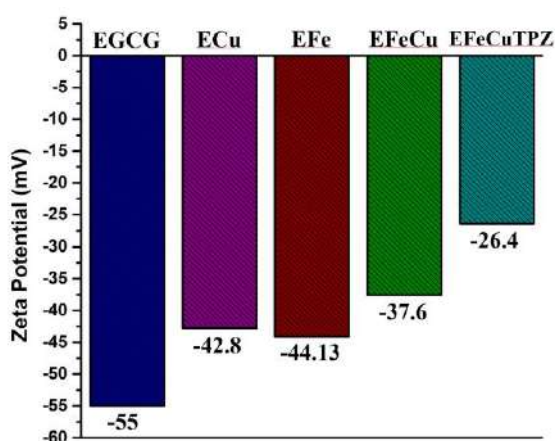


圖 12. (a) ECu (b) EFe (c) EFeCu (d) EGCG 之 SEM 成像圖 (本圖由第一作者繪製)

(四) 掃描電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope, SEM)

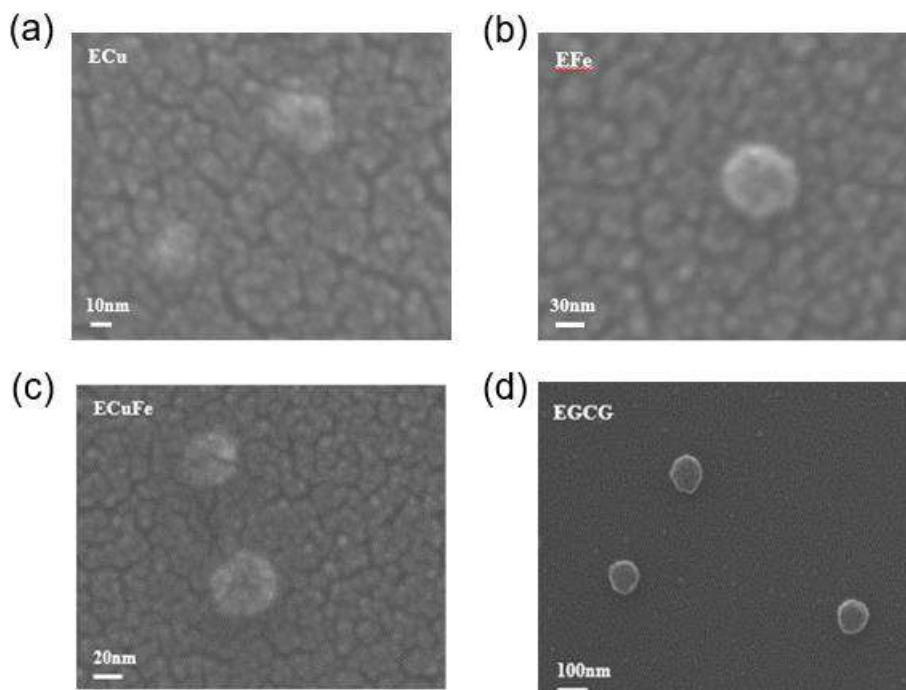


圖 13. (a) ECu (b) EFe (c) ECuFe (d) EGCG 之 SEM 成像圖(本圖由實驗室拍攝)

本研究透過掃描電子顯微鏡 (SEM) 分析靶向腫瘤奈米材料的表面形態和粒徑尺寸。由圖 13 可見，EGCG (表沒食子兒茶素沒食子酸酯) 本身能形成球狀顆粒，且具有良好的分散性。即使加入金屬後，顆粒仍維持完好的球形狀態，顯示金屬的加入並未顯著影響材料的形狀。這一觀察結果表明，材料在結合金屬後形態依然穩定，對於開發具穩定性和功能性的靶向腫瘤奈米材料具有重要意義。

三、探討多酚配位奈米顆粒 (EFeCuTPZ) 之光熱療法效果

根據文獻， Cu^{2+} 與 Fe^{3+} 在癌症治療中展現出互補特性。 Cu^{2+} 在光照下的升溫效果不顯著，因此在光熱治療中的效果有限。然而， Cu^{2+} 在化學動力療法中表現出色，能夠快速且大量產生活性氧。相對地， Fe^{3+} 具有優異的光熱效應，能迅速升溫且效果顯著，但在化學動力療法中的效果較弱。基於這些特性，本研究嘗試結合 Cu^{2+} 與 Fe^{3+} ，以期實現光熱治療與化學動力療法的協同效應，從而增強癌症治療的整體效果。

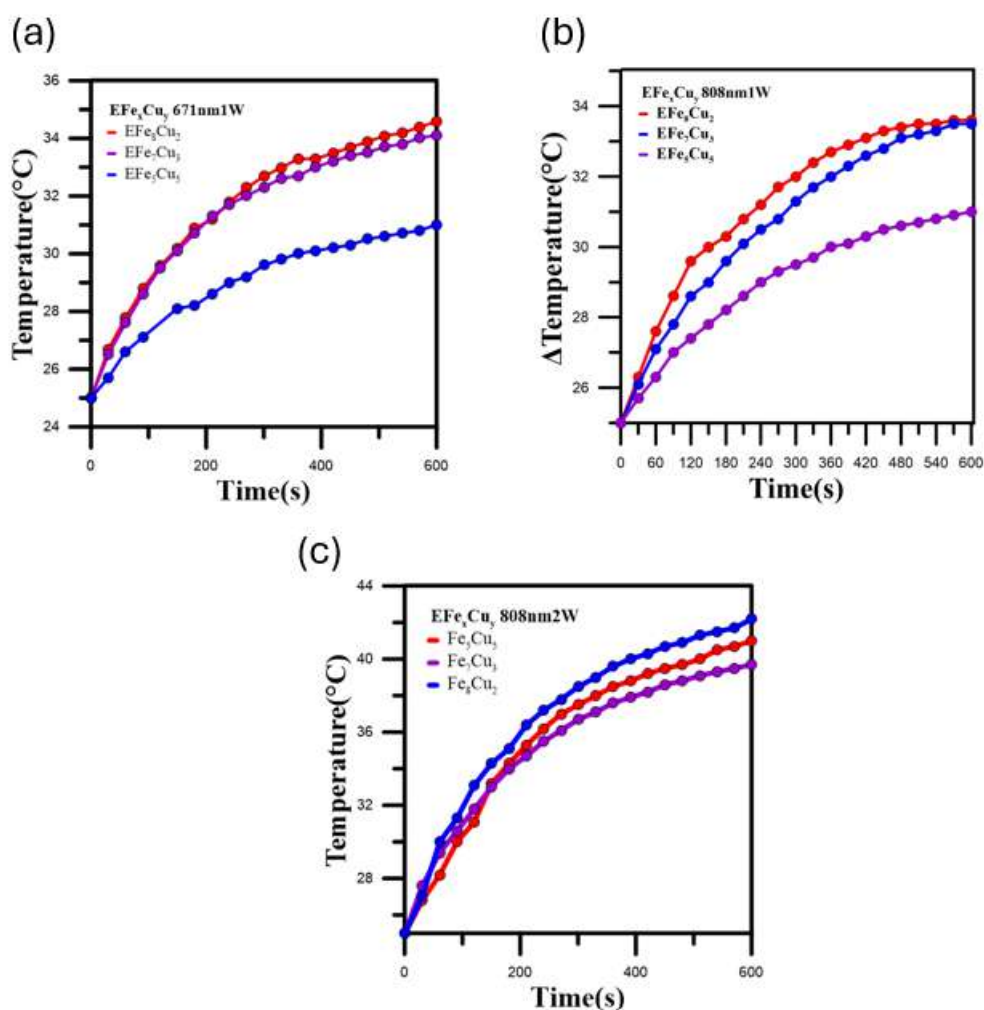


圖 14. 不同金屬比例 EFeCu (200 ppm) 於雷射光 (a) 671 nm, 1W/cm² (b) 808 nm, 1 W (c) 808 nm, 2 W 下升溫情形 (本圖由第一作者繪製)

實驗中，我們分別使用 671 nm (1 W)、808 nm (1 W) 和 808 nm (2 W) 的雷射光源進行照射。如圖 14 所示，Fe³⁺的比例越高，在相同照射時間內，樣品能達到更高的溫度，表現出更好的升溫效果。考慮到需要平衡光熱治療和化學動力療法的效果，本研究選擇了 EFe₇Cu₃ 作為後續實驗的最佳材料組成。

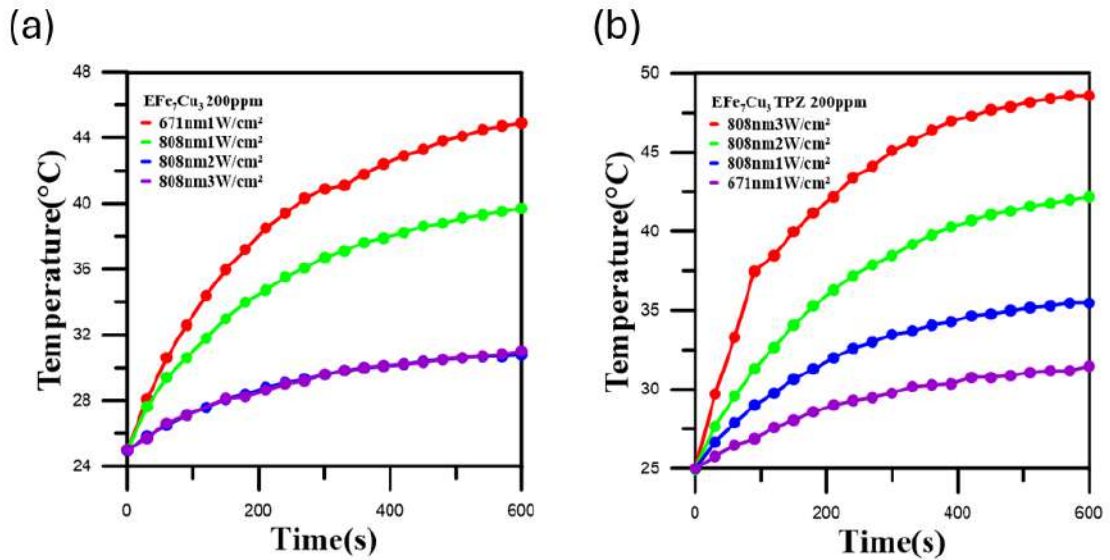


圖 15. (a) EFe₇Cu₃ (200 ppm) 與 (b) EFe₇Cu₃TPZ (200 ppm) 於不同雷射波長及瓦數下升溫情形 (本圖由第二作者繪製)

選擇 808 nm 雷射作為光源有多重考慮：1. 生物組織在 700-1000 nm 波長範圍內具有較低的吸收度，有利於光的深度穿透。2. 近紅外光 (如 808 nm) 波長較長，更適合光熱材料深入腫瘤細胞進行治療。3. 近紅外光強度相對較弱，對正常組織的傷害性較低，提高了治療的安全性。

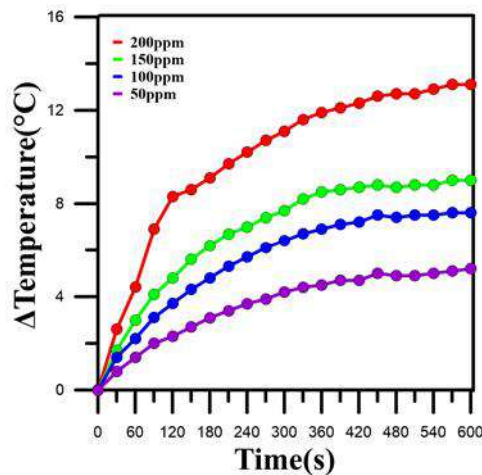


圖 16. 在雷射激發光 (808 nm, 2 W/cm²) 照射下，不同濃度之 EFe₇Cu₃TPZ 之光熱升溫檢測 (本圖由第二作者繪製)

根據圖 16 的數據顯示，隨著材料濃度的增加，升溫效果也相應提升。然而，過高的濃度可能會導致生物組織受到不可逆的損害，因此必須在效果和安全性之間取得最佳平衡。經過綜合考量，本實驗最終選擇了 200 ppm 作為後續實驗中的最佳濃度。這個濃度既能顯著提升

升溫效果，又不至於對生物組織造成過大的損傷，為未來進一步的實驗提供了理想的基礎。

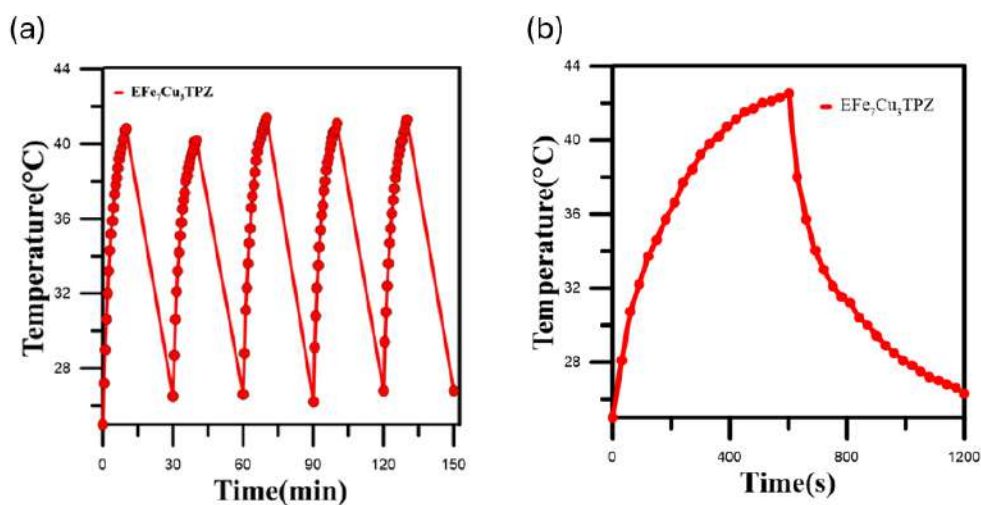


圖 17. (a) 200 ppm 之 EFe₇Cu₃TPZ 在雷射激發光 (808 nm, 2 W/cm²) 的照射下之光熱穩定度測試 (b) 為單循環之光熱穩定性測試 (本圖由第二作者繪製)

從圖 17 的數據可知，當停止光照後，材料的溫度呈現穩定下降的趨勢，這是材料與周圍環境進行熱對流交換的結果。這一現象顯示了兩個重要特點：材料的內部結構未因溫度上升而遭到破壞、材料具有穩定的升溫和降溫特性。

這些觀察結果證明了所研發材料具有良好的熱穩定性和可逆性，對於實際應用中的安全性和可控性至關重要。綜上所述，本研究通過結合 Cu²⁺和 Fe³⁺的特性，開發出一種在光熱治療和化學動力療法中均具有潛力的新型奈米材料。選擇適當的光源和材料組成，不僅提升了治療效果，還確保了材料的穩定性與安全性，為未來癌症治療提供了新的策略和可能性。

為了更確切得知 EFeCuTPZ 奈米材料對 808 nm 雷射光源之光熱性質，可藉由 Roper's report 所提出的理論來計算材料之光熱轉換效率。其光熱轉換效率是利用整體系統上總能量平衡時，材料內部累積之內能與雷射所提供之光能來進行比較後，推導出公式如下：

$$\sum_i m_i C_{p,i} \frac{dT}{dt} = Q_{NC} + Q_{Dis} - Q_{Surr} \quad (1)$$

$$Q_{NC} = I(1 - 10^{-A_{808}})\eta \quad (2)$$

$$Q_{Surr} = hS(T - T_{surr}) \quad (3)$$

$$Q_{NC} + Q_{Dis} = Q_{Surr-Max} = hS(T_{max} - T_{surr}) \quad (4)$$

$$\eta = \frac{hS(T_{\max}-T_{\text{sur}})-Q_{\text{dis}}}{I(1-10^{-A_{808}})} \quad (5)$$

$$\theta = \frac{\Delta T}{\Delta T_{\max}} \quad (6)$$

$$\tau_s = \frac{\sum_i m_i C_{p,i}}{hS} \quad (7)$$

$$\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{\tau_s} \left[\frac{Q_{\text{NC}}+Q_{\text{Dis}}}{hS(T_{\max}-T_{\text{sur}})} - \theta \right] \quad (8)$$

$$dt = -\tau_s \frac{d\theta}{\theta} \quad (9)$$

$$t = -\tau_s \ln \theta \quad (10)$$

η :光熱轉換效率

A_{808} :吸收值(808 nm)

m_i :水溶液克數

Q_{NC} :材料之吸收熱能

θ :溫度函數

Q_{Dis} :損失熱能

$C_{p,i}$:水的熱容

Q_{Surr} :整體系統損失熱能

t :時間

τ_s :材料衰退週期

T :溫度

hS :對流係數

由整體系統能量平衡 [accumulation] = [input]-[output]+[generation] 可得 eq (1)，而藉由 eq (2) 得到效率與熱能之關係，當材料溫度達平衡時 $\frac{d\theta}{dt} = 0$ ，此為材料能達到之最高溫，合併 eq (1)~eq (4) 可得 eq (5)，而由 eq (6) 與 eq (7) 代入 eq (1) 可得 eq (8)，並對 eq (8) 積分可得 eq (10)。

本實驗利用玻璃管為容器來測量不同濃度 EFeCuTPZ 溶於總體積為 1 mL 純水的溫度上升曲線 (已知 $m_{\text{water}} = 1.0 \text{ g}$ 、 $C_{p,\text{water}} = 4.18 \frac{\text{J}}{\text{g}^\circ\text{C}}$ 與 $I = 516.6 \text{ mW}$) 以及藉由上述數據求得光熱轉換效率。由 eq (10) 得知 τ_s 需藉由時間 (t) 與溫度函數對數 ($-\ln \theta$) 之斜率來求得，而 θ 值由材料降溫數據可得其結果，以圖 18 所示， τ_s 經由此圖斜率可得其值為 407.75(s)，並可得 R^2 數值為 0.9923，確認數據之準確度，且由已知條件將 $\tau_s = 407.75$ 代入 eq (7) 可得 $hS = 3.811 \text{ mW}/^\circ\text{C}$ 。為了求得更多未知數，由實驗可得純水與室溫差為 4.7°C ，而

材料濃度為 200 ppm 時，與室溫差為 17.5 °C，將僅有純水之數據代入 eq (4)，假設 $Q_{NC} = 0$ 並求出 $Q_{Dis} = 17.912446 \text{ mW}$ ，並由紫外光/可見光吸收光譜儀量測材料為 200 ppm 時在波長為 808 nm 之吸收值為 0.066，最後將所有已知條件代入，可得到 200 ppm 下 EFeCuTPZ 奈米材料之光熱轉換效率 (η) 為 61.6 %。

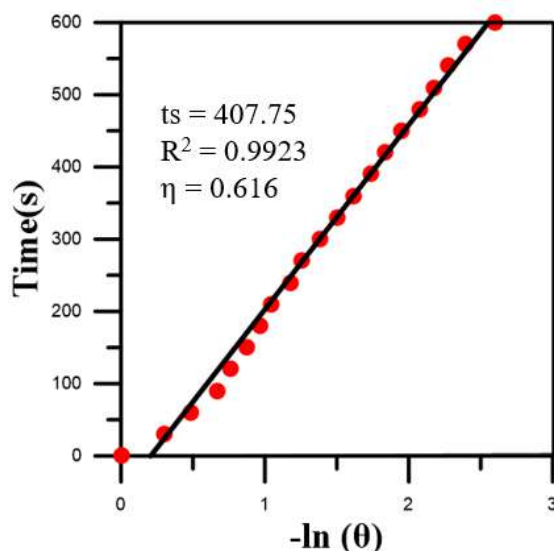


圖 18. EFeCuTPZ 之時間(t)與溫度函數對數($-\ln \theta$)之關係圖 (本圖由第二作者繪製)

四、探討多酚配位奈米顆粒 (EFeCuTPZ) 之化學動力療法效果

由文獻可知， Cu^+ 在酸性環境中與過氧化氫 (H_2O_2) 發生反應，產生高活性的羥基自由基 ($\bullet\text{OH}$)。這一過程被稱為類芬頓反應 (Fenton-like reaction)，是一種重要的活性氧 (ROS) 生成機制。為了驗證和量化這一反應過程，本研究採用了 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺 (TMB) 作為指示劑。TMB 具有以下特性：1. 能夠與 $\bullet\text{OH}$ 反應，形成氧化態的 TMB (ox-TMB)。2. ox-TMB 在 652 nm 波長處具有特徵吸收峰。透過實驗結果可得知，隨著時間進展，652 nm 處的吸收值持續上升，證明 Cu^+ 進行。類芬頓反應產生活性氧的特性。

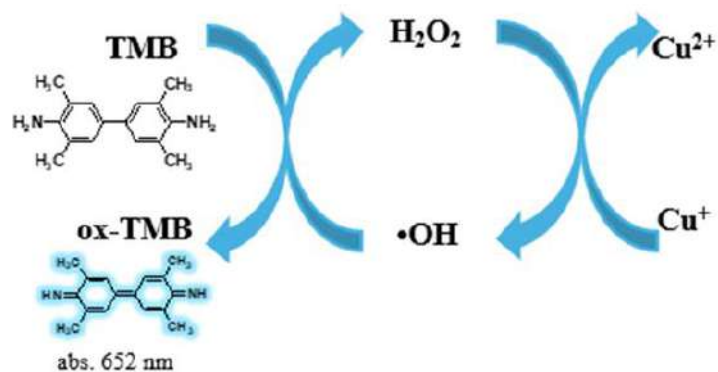


圖 19. TMB 反應機制圖 (本圖由第一作者繪製)

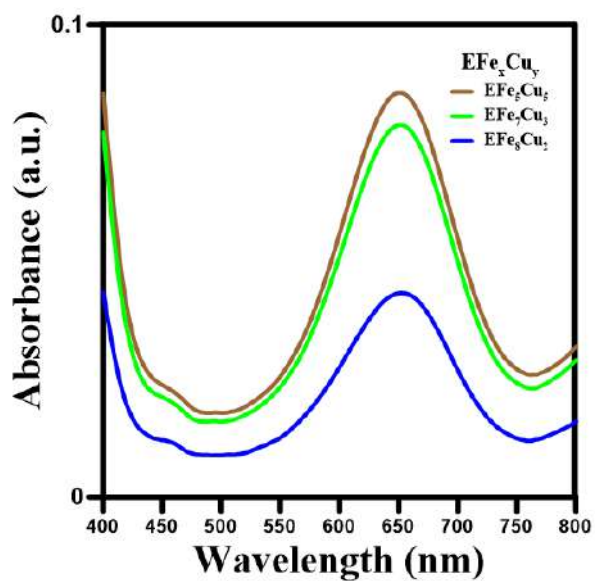


圖 20. 200 ppm 的 EFe_xCu_y ，不同時間反應下的 ox-TMB/TMB 吸收光譜圖
(本圖由第一作者繪製)

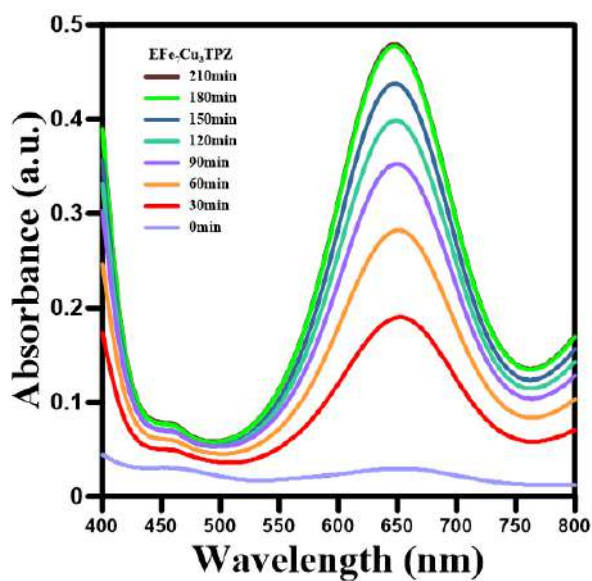


圖 21. 200 ppm 的 EFeCuTPZ ，不同時間反應下的 ox-TMB/TMB 吸收光譜圖

(本圖由第一作者繪製)

由圖 21 可知，透過實驗結果可得知，隨著時間進展，652 nm 處的吸收值持續上升，證明 Cu^+ 進行類芬頓反應產生活性氧的特性。

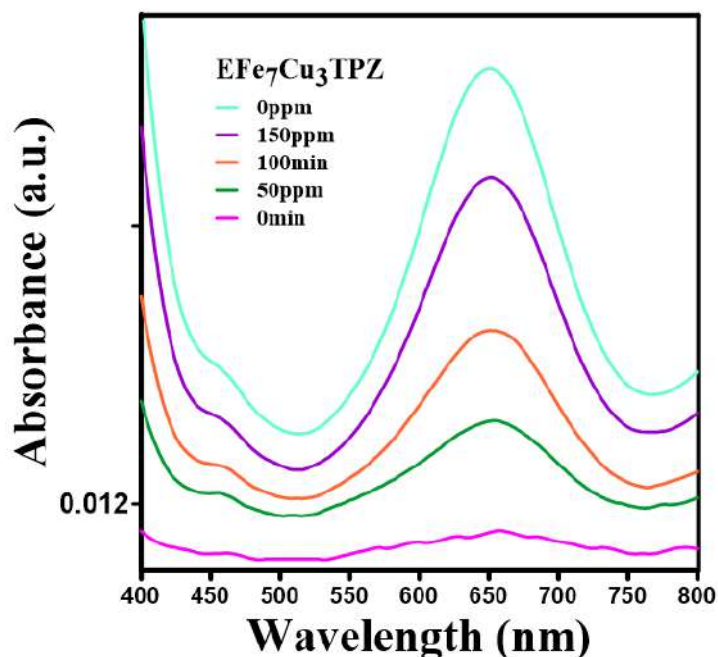


圖 22. 不同濃度之 EFeCuTPZ，在相同時間反應下的 ox-TMB/TMB 吸收光譜圖

(本圖由第二作者繪製)

從圖 22 的實驗結果可以看出，吸光度的增加直接反映了 ox-TMB 濃度的上升，而 ox-TMB 濃度的上升則意味著更多的 $\cdot\text{OH}$ 被生成。 $\cdot\text{OH}$ 的持續生成證實了 Cu^+ 確實參與了類芬頓反應，並不斷產生活性氧物質。本實驗成功通過 TMB 指示劑系統驗證了 Cu^+ 在類芬頓反應中產生活性氧的能力。這一發現對於理解 Cu^+ 在化學動力療法中的作用機制具有重要意義，並為進一步開發基於 Cu^+ 的癌症治療策略奠定了實驗基礎。

五、探討多酚配位奈米顆粒 (EFeCuTPZ) 之消耗穀胱甘肽能力

Cu^{2+} 與還原劑 GSH 之間發生氧化還原反應，生成 Cu^+ 和 GSSG。在此反應中，GSH 逐漸被消耗。同時，DTNB 與 GSH 反應，生成黃色的 TNB^{2-} 。由於 TNB^{2-} 在 412 nm 處具有明顯的吸收峰，因此可以通過測量 412 nm 處的吸光值來定量評估 GSH 的含量和 Cu^{2+} 對 GSH 的消耗能力。

在實驗中，隨著 Cu^{2+} 逐漸消耗 GSH， TNB^{2-} 的生成量減少，這導致 412 nm 處的吸光值隨

時間推移逐漸下降。這一現象表明， Cu^{2+} 與 GSH 之間的氧化還原反應隨著時間不斷進行，GSH 被 Cu^{2+} 有效消耗。透過吸光值的持續下降，實驗結果清楚證實了 Cu^{2+} 在反應中對 GSH 具有強大的消耗能力。

此外，吸光值的下降趨勢也可以作為評估 Cu^{2+} 催化能力的指標，這有助於深入理解 Cu^{2+} 在各種生物系統中的反應行為，尤其是在涉及氧化還原反應的化學動力療法中。該實驗結果為後續研究奠定了基礎，並提供了一個有效的定量方法，用以評估 Cu^{2+} 與 GSH 之間的反應動力學。

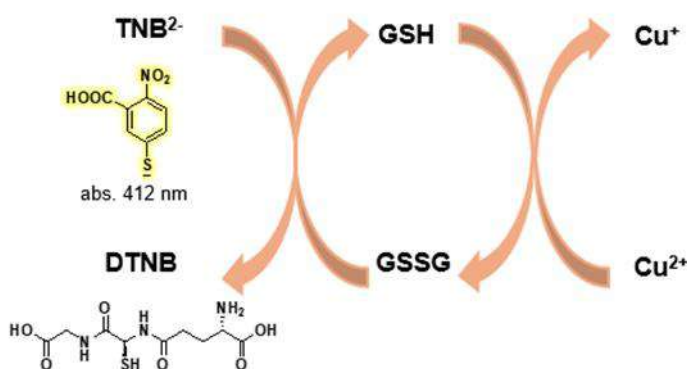


圖 23. DTNB 反應機制圖 (本圖由第一作者繪製)

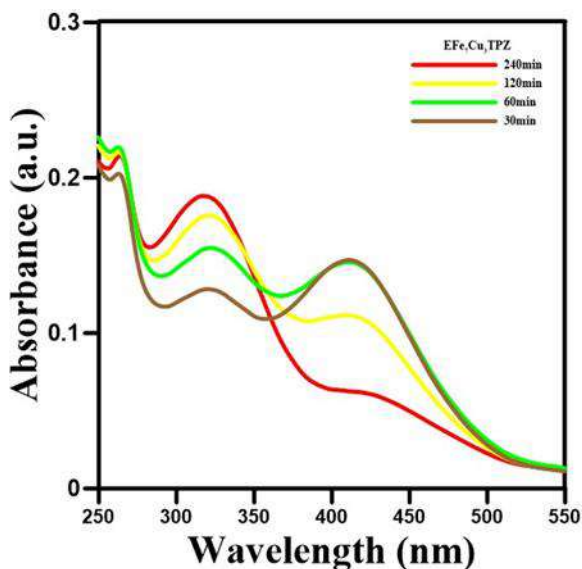


圖 24. 200 ppm 的 EFeCuTPZ，不同時間反應下的 DTNB/TNB 吸收光譜圖

(本圖由第二作者繪製)

Cu^{2+} 與 GSH 反應形成 Cu^{+} 與 GSSG，且 DTNB 與 GSH 反應可形成黃色的 TNB^{2-} ，因此本實驗由 TNB^{2-} 在 412 nm 處吸收峰的吸收值，推測 Cu^{2+} 消耗 GSH 的能力。透過實驗結果可

得知隨著時間進展，412 nm 處的吸收值持續下降，可證明 Cu^{2+} 對 GSH 的消耗能力。

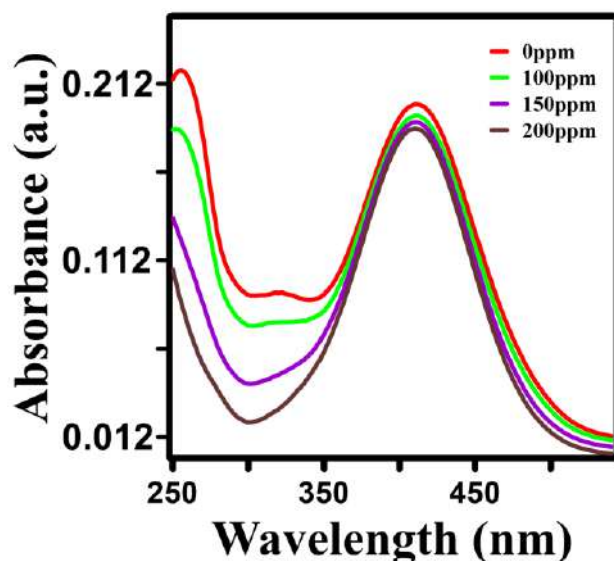


圖 25. 不同濃度的 EFeCuTPZ，在相同時間反應下的 DTNB/TNB 吸收光譜圖

(本圖由第二作者繪製)

由圖 25 可知，隨著濃度的上升，以紫外光-可見光光譜儀測得的吸收值逐步遞減，可推測材料具有與 GSH 反應使 DTNB 形成黃色的 TNB^{2-} 的能力，材料濃度越高，產生的 TNB^{2-} 越少。

六、TPZ 藥物釋放之效果

透析是一種常用的分離技術，利用半透膜將不同大小的分子分離開來。在本研究中，透析袋 (3.5 K) 允許小於 3.5 kDa 的分子通過，而大於 3.5 kDa 的材料則保留在透析袋內。TPZ 釋放後會以小分子藥物形式存在，從而通過透析袋半透膜進入 PBS 中。

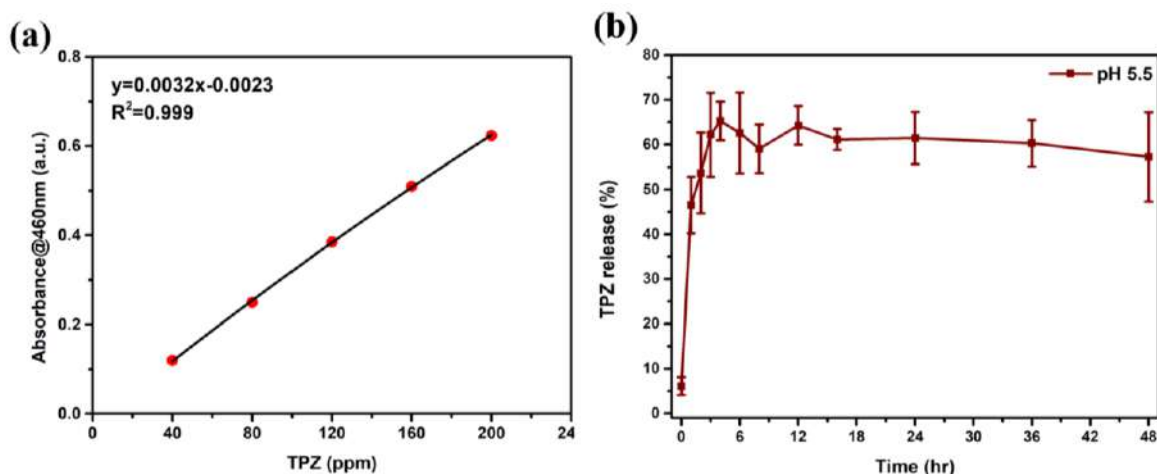


圖 26. (a) TPZ 濃度-吸收度檢量線。(b) EFeCuTPZ 於 pH 5.5 中累積 TPZ 釋放曲線。

(本圖由第二作者繪製)

為了了解 TPZ 在 EFeCuTPZ 中的釋放效果及程度，本研究採用比爾-朗伯定律測量溶液中的 TPZ 濃度。由圖 26. (a)可知溶液吸收度與待測物質濃度成正比，可利用此性質在測得藥物釋放的吸收度後，計算轉換成 TPZ 濃度，最後得到累積藥物釋放曲線圖，如圖 26. (b)。

本研究模擬在腫瘤微環境 (pH 5.5) 條件下，TPZ 藥物釋放表現。由實驗數據圖 26. (b) 所示，觀察到在初期 6 小時，累積藥物釋放率達到約 65 %，且之後幾乎不再釋放。這結果顯示出 EFeCuTPZ 在酸性環境有顯著的釋放，有助於提升對腫瘤微環境的治療。

七、細胞實驗

(一) 細胞相容性分析

在此，本研究使用 4T1 小鼠乳癌細胞進行後續生物體外實驗測試。首先，配置不同濃度的 EFeCuTPZ，並在細胞培育一天後加入含有 EFeCuTPZ 之培養液，再與細胞共培養 24 小時後觀察其變化，再進行細胞存活率測試，觀察 EFeCuTPZ 與細胞相容性。如圖 27 所示，EFeCuTPZ 與細胞共培養 24 小時後，在 200 ppm 濃度下，4T1 細胞的存活率約為 83 %。

由以上結果得知，EFeCuTPZ 與 4T1 細胞共培育時，細胞均保有出良好的存活率，從而證實 EFeCuTPZ 對細胞而言是一種低毒性、高相容性的材料，可作為後續癌症細胞實驗所使用。

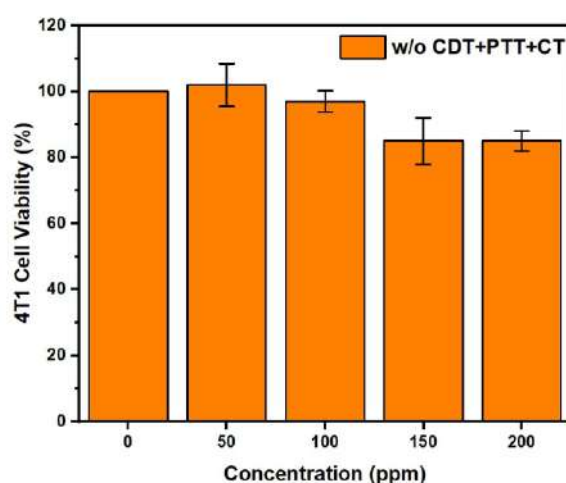


圖 27. 4T1 cells 內進行細胞相容率測試之細胞存活率 (本圖由第一作者繪製)

(二) 細胞體外之光熱/化學動力/化療分析

由先前實驗結果已證實 EFeCuTPZ 與細胞共存時具有良好的生物相容性，即使是到 200 ppm 也不會對細胞造成過大損傷。因此，本研究將進一步探討 EFeCuTPZ 在對 4T1 cells 進行各種療法協同作用下的治療功效。

先配置不同濃度 EFeCuTPZ，並在一天後加入含有 EFeCuTPZ 之培養液及 50 mM H_2O_2 ，與細胞共培養 24 小時後觀察其變化，再進行細胞存活率測試，觀察細胞凋亡的功效。

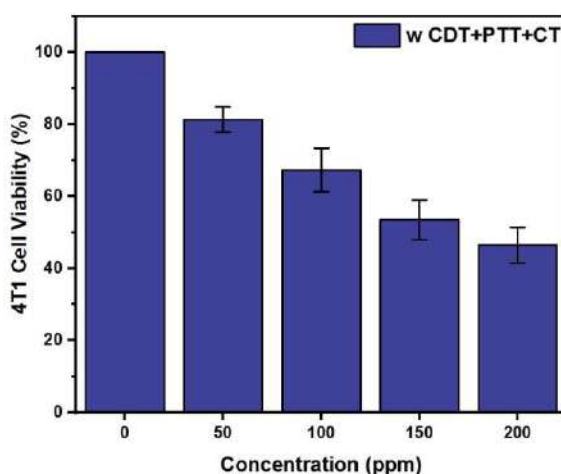


圖 28. 4T1 cells 經各種治療後的細胞存活率 (本圖由第一作者繪製)

如圖 28 所示，不同濃度的材料在協同多種療法，皆具有一定的細胞殺傷力，且越高濃度凋亡率越高，在 200 ppm 時，細胞存活率只剩 50 %。由此可見 EFeCuTPZ 在協同多種療法下，具有更好的細胞殺傷力，從而提升細胞凋亡及抑制細胞生長的效果。

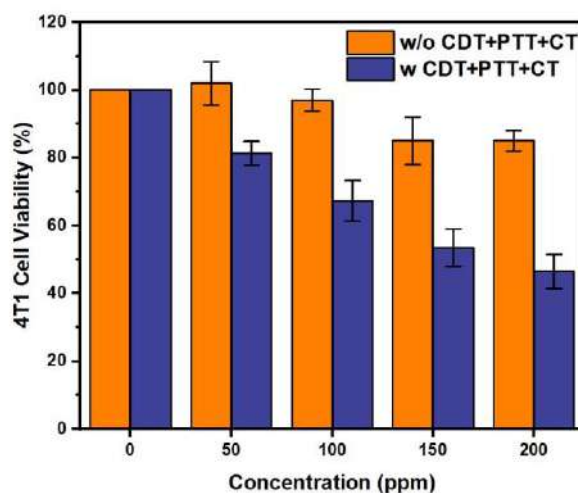


圖 29. 4T1 cells 有無進行治療之比較 (本圖由第一作者繪製)

由圖 29 可見，比較進行治療前後的細胞存活率，僅加入 EFeCuTPZ 材料而未進行治療時，細胞存活率無顯著下降，證實其良好的生物相容性。然而，經治療後，細胞死亡率顯著增加，且隨材料濃度提升殺傷效果更強，顯示出 EFeCuTPZ 作為多功能腫瘤治療材料的潛力。

肆、結論

本研究成功合成了 EFeCuTPZ 抗癌奈米粒子，該粒子由表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (EGCG)、鐵離子 (Fe^{3+})、銅離子 (Cu^{2+}) 和替拉扎明 (TPZ) 組成。此合成方法具有操作簡便、成本低廉、製程快速且符合綠色化學原則的優點。

- 一、通過紫外-可見光譜 (UV-vis) 檢測，我們觀察到 EFeCuTPZ 的特徵吸收峰，證實了 EGCG 成功與 TPZ 及金屬氧化物結合。掃描電子顯微鏡 (SEM) 和動態光散射 (DLS) 分析顯示，所得奈米粒子為球形，具有窄的粒徑分布和良好的分散性。
- 二、我們比較了波長 808 nm 和 671 nm 雷射光照射下 EFeCuTPZ 的升溫效果。考慮到較長波長具有更高的組織穿透度和較低的生物損傷，同時權衡了治療效果和安全性，我們選擇了 808 nm、2 W 的雷射作為最佳光源。這一選擇既能提供良好的升溫效果，又能最大限度地減少對正常組織的傷害。
- 三、在 808 nm、2 W 雷射照射下，我們發現：(1) 材料濃度與升溫效果呈正相關。(2) Fe^{3+} 濃度越高，光熱效果越顯著，有利於光熱療法 (PTT)。(3) Cu^{2+} 含量越多，化學動力療法 (CDT) 效果越佳。
- 四、透過 TMB 檢測劑，我們明確證實了所合成的奈米粒子具有顯著的 CDT 效果。CDT 主要通過催化過氧化氫分解產生活性氧 (ROS)，從而殺傷癌細胞。
- 五、透過 DTNB 檢測劑，我們觀察到谷胱甘肽 (GSH) 的顯著消耗。這表明材料中的金屬氧化物能夠有效地進行芬頓反應，產生羥基自由基，這對於增強 CDT 效果和克服腫瘤細胞的抗氧化防禦機制至關重要。
- 六、TPZ 藥物釋放觀察到在初期 6 小時，累積藥物釋放率達到約 65 %，且之後幾乎不再釋放。顯示出 EFeCuTPZ 在酸性環境有顯著的釋放，有助於提升對腫瘤微環境的治療。未

來會進一步針對短時間 (6 小時)，每隔 30 分鐘測一次藥物釋放，比較在酸鹼條件下的釋放速率及效果。

- 七、由細胞相容性分析，可證實 EFeCuTPZ 對細胞而言是一種低毒性、高相容性的材料。進一步對細胞進行多種療法 (光熱/化動/化療)，細胞死亡率顯著增加，且殺傷效果隨材料濃度增強，顯示出 EFeCuTPZ 作為多功能腫瘤治療材料的潛力。

伍、參考資料及其他

- 一、郭佳承，2022 年，奈米複合材料的合成並協同光驅動/化學動力療法與應用，國立臺灣科技大學化學工程系:碩士學位論文
- 二、陳宜佳，2023 年，一體化介孔奈米球用於癌細胞之缺氧反應化療/光熱/ 化學動力學/氣體治療國立臺灣科技大學化學工程系：碩士學位論文
- 三、Hui Shi, Ru Wang, Hu-Chen Cao, Hai-Yan Guo, Pei Pan, Cheng-Feng Xiong, Lin-Jun Zhang, Qiang Yang, Shuang Wei, and Tao Liu, (2023), A Metal-Polyphenol-Based Oxygen Economizer and Fenton Reaction Amplifier for Self-Enhanced Synergistic Photothermal/Chemodynamic/Chemotherapy. *Adv. Healthcare Mater.*, 12, 2300054-
- 四、D. G. Rathod, H. Muneer, and S. Masood, "Phototherapy," in *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing, 2021.
- 五、Z. Tang, Y. Liu, M. He, and W. Bu, "Chemodynamic therapy: tumour microenvironment-mediated Fenton and Fenton-like reactions," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 58, no. 4, pp. 946-956, 2019.
- 六、Z. Ren *et al.*, "A metal-polyphenol-coordinated nanomedicine for synergistic cascade cancer chemotherapy and chemodynamic therapy," *Advanced Materials*, vol. 32, no. 6, p. 1906024, 2020.
- 七、腫瘤微環境 (Tumor microenvironment, TME)，圖片來源：<https://reurl.cc/xvaggz>

【評語】 030014

結合奈米合成技術與生物醫學，利用表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (Epigallocatechin gallate, EGCG) 作為載體 調控摻雜 $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{3+}$ 與 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 之含量 並以 $\pi-\pi$ 交互作用力附載缺氧性抗癌藥物替拉扎明 (Tirapazamine, TPZ) 成功製備出多功能金屬多酚配位奈米顆粒簡稱為 EFeCuTPZ。細胞實驗顯示 EFeCuTPZ 具有高生物相容性與治療效果，開發出具 CDT, CT 及 PTT 功能之奈米複合材料 為醫學新興藥物材料提供可能性。實驗完整論述清楚，可加強與過去類似實驗的差異以展現本方法的優點。