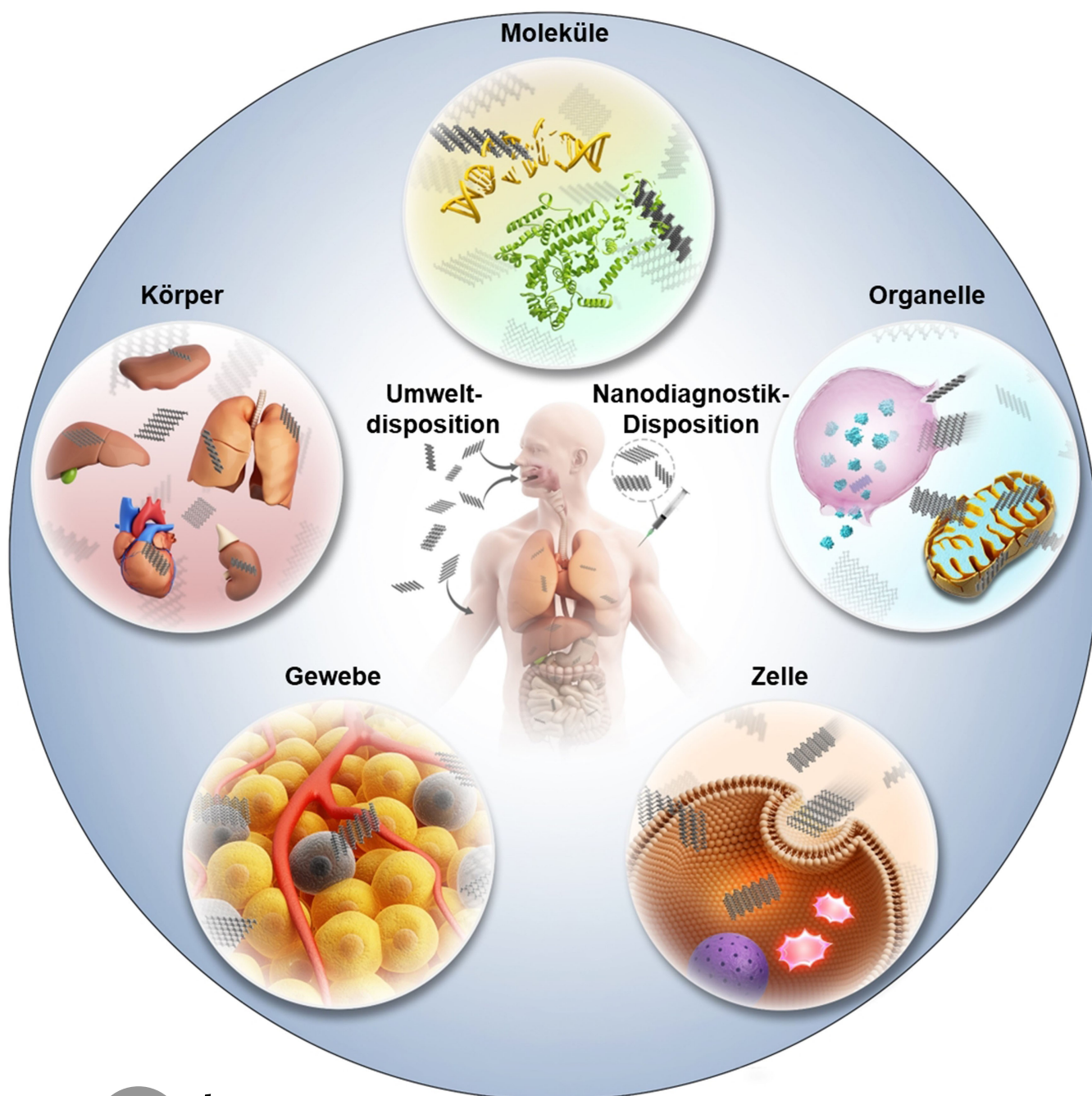


Schwarzer Phosphor

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, 62, e202213336

Internationale Ausgabe: doi.org/10.1002/anie.202213336

Deutsche Ausgabe: doi.org/10.1002/ange.202213336

Biologische Effekte von auf schwarzem Phosphor basierenden Nanomaterialien auf Zellen und Tiere*Xuejiao Zhang, Ievgen S. Donskyi,* Weihao Tang, Shuo Deng, Daxu Liu, Siyu Zhang, Qing Zhao,* und Baoshan Xing*

Abstract: Die bedeutenden Fortschritte bei der Anwendung von auf schwarzem Phosphor basierenden Nanomaterialien (SPNMs) sind auf deren hervorragende Eigenschaften zurückzuführen. Aufgrund der vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten dieser Materialien sind die Freisetzung in die Umwelt und eine anschließende Exposition des Menschen praktisch unvermeidlich. Daher muss untersucht werden, wie sich SPNMs auf biologische Systeme und die menschliche Gesundheit auswirken. In dieser umfassenden Übersicht werden die neuesten Erkenntnisse in Bezug auf Wirkungsweise, Mechanismen und Regulierungsfaktoren der endogenen Toxizität von SPNMs in Säugetieren vorgestellt. Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für das Verständnis der biologischen Auswirkungen und haben das Ziel, Regulierungsprinzipien zur Minimierung gesundheitsschädlicher Auswirkungen festzulegen.

1. Einleitung

1914 wurde schwarzer Phosphor (SP) erstmals von Bridgeman aus weißem Phosphor synthetisiert.^[1] SP, das stabilste Phosphor-Allotrop, besteht aus gestapelten, dreieckigen, pyramidenförmigen, zweidimensionalen (2D) Schichten (Abbildung 1a), die aus sp^3 -hybridisierten Phosphoratom^[2] gebildet werden und durch schwache Van-der-Waals-Kräfte zwischen den Schichten verbunden sind.^[3] Seit Li et al. 2014 über die Umwandlung von massivem SP in geschichteten SP (LSP) und zudem über die einzigartigen optoelektronischen Eigenschaften aus der Perspektive eines 2D-Materials berichteten,^[4] ist das Forschungsinteresse an LSP stark gestiegen. SPNMs, einschließlich LSP und SP-Quantenpunkte (SPQPs), können aus SP durch eine Vielzahl von Methoden, wie z. B. mechanische Exfoliation,^[5] Flüssigphasen-Exfoliation,^[6] solvothermische Reaktion,^[7] Mikrowellen- oder Laserbestrahlung,^[8] gewonnen werden. SPNMs haben weitreichende Anwendungen in der Optoelektronik,^[9] der Katalyse,^[10] der Energiespeicherung^[11] und

der Biomedizin.^[12] Mit der Entwicklung einer kostengünstigen Produktionstechnologie können SPNMs derzeit im Gramm-Maßstab hergestellt werden und kosten zwischen 0,25 und 1 Dollar pro Gramm, was den Weg für ihre großtechnische Anwendung ebnet.^[13]

Mit der ständig steigenden Nachfrage aus Forschung und Industrie sowie der skalierbaren Produktion von Materialien auf SPNM-Basis wird ein Austreten in die Umwelt immer wahrscheinlicher. In der Folge steigt auch das Risiko einer Exposition des Menschen durch Einatmen, Verschlucken und über die Haut. Sobald SPNMs in den menschlichen Körper gelangen, können sie sich über den Blutkreislauf ausbreiten und sich in Organen und Geweben ablagern. Daher ist eine umfassende Auswertung der potenziellen Auswirkungen von SPNMs auf die menschliche Gesundheit erforderlich. In der Datenbank Web of Science (<http://www.isiknowledge.com>) wurden zahlreiche Artikel zu den The-

[*] Prof. X. Zhang, Dr. W. Tang, Q. Zhao
National-Regional Joint Engineering Research Center for Soil Pollution Control and Remediation in South China
Guangdong Key Laboratory of Integrated Agro-environmental Pollution Control and Management
Institute of Eco-environmental and Soil Sciences, Guangdong Academy of Sciences
Guangzhou 510650 (China)
E-mail: zhaoqing@iae.ac.cn

Prof. X. Zhang, Prof. S. Deng, Prof. D. Liu, Prof. S. Zhang, Q. Zhao
Key Laboratory of Pollution Ecology and Environmental Engineering
Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences
Shenyang 110016 (China)

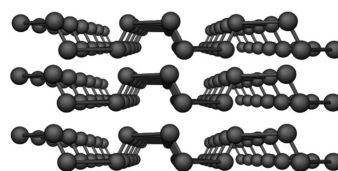
Dr. I. S. Donskyi
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Germany)
E-mail: ievgen.donskyi@fu-berlin.de

Prof. S. Deng, Prof. D. Liu
University of Chinese Academy of Sciences
Beijing 100049 (China)

Prof. B. Xing
Stockbridge School of Agriculture, University of Massachusetts
Amherst, MA 01003 (USA)

© 2022 Die Autoren. Angewandte Chemie veröffentlicht von Wiley-VCH GmbH. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution Non-Commercial License, die eine Nutzung, Verbreitung und Vervielfältigung in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert und nicht für kommerzielle Zwecke genutzt wird.

a



b

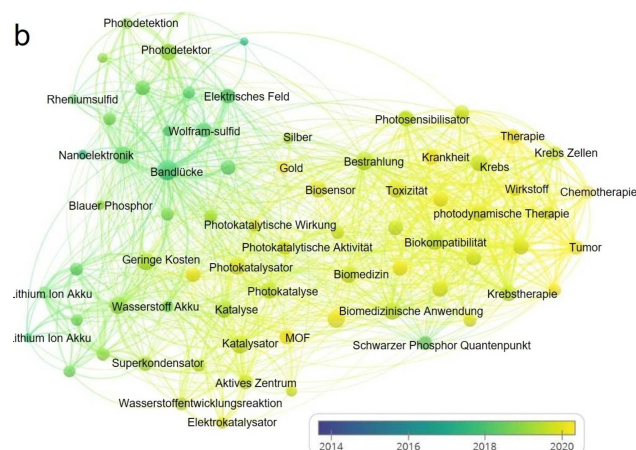


Abbildung 1. a) Struktur von schwarzem Phosphor. b) Netzwerkkarte der Forschungstrends auf Grundlage der Schlüsselwörter von 2016 bis 2021. (Die Farben stellen die Zeit des erstmaligen Auftretens des entsprechenden Schlüsselwortes dar).

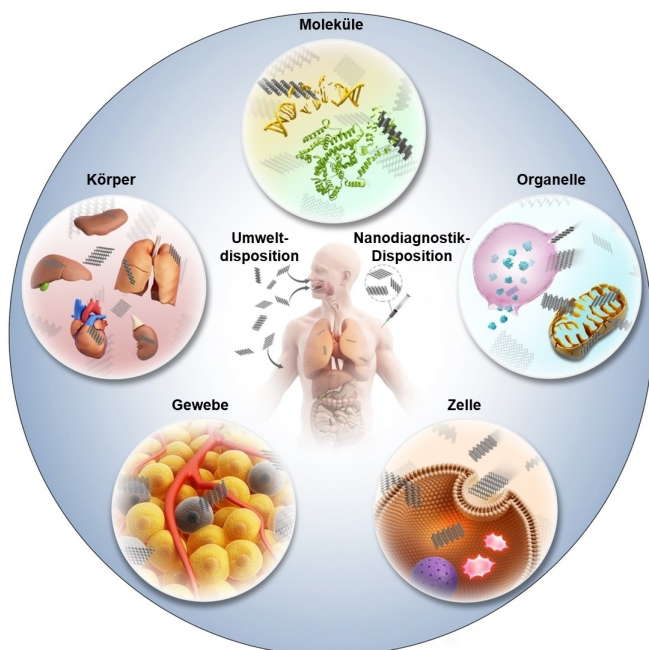


Abbildung 2. Schematische Darstellung der Interaktion von SPNMs mit biologischen Systemen.

men “schwarzer Phosphor” und “Phosphorene” gefunden, und bei der Analyse des sozialen Netzwerks VOSviewer (Abbildung 1b) zeigt sich, dass Schlüsselbegriffe wie “Biokompatibilität” und “Toxizität” immer häufiger auftauchen.

Dies unterstreicht das stetig wachsende Interesse der wissenschaftlichen Gesellschaft in Bezug auf die Biokompatibilität von SPNM.

In den vergangenen fünf Jahren wurde die biologische Wirkung von SPNMs sowohl *in vitro* als auch *in vivo* untersucht. Ursprünglich galten SPNMs immer als biokompatibel, da sie auf natürliche Weise zu nicht toxischen Phosphaten abgebaut werden können.^[14] Bereits frühere Studien zeigten, dass LSP und SPQs gegenüber einer Reihe von Säugetierzelllinien (HeLa, COS-7, 293T und MCF-7), selbst bei einer Konzentration von 1.0 mg mL^{-1} ,^[15] nicht toxisch sind. Allerdings konnten Pumera et al. zeigen, dass SPNMs mit den Reagenzien, die für die Toxizitätstests verwendet wurden, reagieren können und somit zu falschen Toxizitätswerten führen.^[16] Wir konnten mittels einer markierungsfreien Echtzeit-Zellanalysetechnik zeigen, dass LSP eine konzentrations-, größen- und zelltypabhängige Zytotoxizität aufweist.^[17] Es wurden zwar zahlreiche umstrittene toxikologische Ergebnisse für SPNMs veröffentlicht, aber weder wurden spezifische Schlussfolgerungen gemacht noch entsprechende Mechanismen gefunden.^[18] Neben den allgemeinen Toxizitätsfaktoren (z. B. laterale Dimension, Oberflächeneigenschaften und Funktionalitäten) ist das Verhalten der SPNMs von ihrer chemischen Aktivität und ihrem Abbauverhalten abhängig. SPNMs werden in Krebszellen schneller abgebaut als in gesunden Zellen. Die dadurch resultierende hohe Konzentration von Abbauprodukten (Phosphate) könnte eine Reihe biologischer Wirkungen hervorrufen.^[18c,19] Daher muss die intrinsische Aktivität von



Xuejiao Zhang promovierte 2015 an der Freien Universität Berlin unter der Betreuung von Prof. Dr. Rainer Haag. Anschließend wechselte sie über das Hundred Talents Program der Chinesischen Akademie der Wissenschaften an das Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences. Derzeit ist sie Professorin am Institute of Eco-environmental and Soil Sciences, Guangdong Academy of Sciences. Ihre Forschungsinteressen konzentrieren sich auf die Anwendung von zweidimensionalen Nanomaterialien in der Umwelt und deren

Auswirkungen auf die Gesundheit.



Ievgen S. Donskyi promovierte 2019 in Chemie an der Freien Universität Berlin in der Gruppe von Prof. Dr. Rainer Haag. Derzeit ist er Nachwuchsgruppenleiter der Organischen und Makromolekularen Chemie an der Freien Universität Berlin. Im Jahr 2022 konnte er im Rahmen des NanoMatFutur-Programms des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) erfolgreich ein Stipendium einwerben. Seine Forschungsschwerpunkte sind funktionalisierte 2D-Materialien auf Basis von Kohlenstoff und schwarzem Phosphor, biologisch abbaubare Pathogeninhibitoren, Design von Nanoplattformen für die Krebsbekämpfung sowie die Herstellung von Filtermaterialien.



Qing Zhao promovierte 2010 am Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences. Von 2010 bis 2014 arbeitete er als Postdoktorand bei Prof. Dr. Bao-shan Xing. Danach trat er dem Institute of Applied Ecology der Chinese Academy of Sciences bei und arbeitete als Professor. Kürzlich trat er dem Institute of Eco-environmental and Soil Sciences der Guangdong Academy of Sciences bei. Seine Forschungsinteressen konzentrieren sich auf das Umweltverhalten und die Sicherheitsbewertung von Nanomaterialien.

SPNMs bei der Gefahrenbeurteilung zwingend berücksichtigt werden.^[19,20]

Eine erste Schlussfolgerung ist, dass SPNMs überwiegend mittels Caveolin-abhängiger Endozytose oder Mikropinozytose in Zellen aufgenommen werden.^[14a,21] Darüber hinaus spielen auch die Phagozytose und die Clathrin-abhängige Endozytose eine Rolle, sofern die physikochemischen Eigenschaften (Größe, Oberflächenladung, Funktionalität) von SPNMs reguliert werden.^[22] Neben den Studien zur zellulären Aufnahme wurde auch eine Reihe weiterer Studien durchgeführt, die sich auf die biologische Verteilung, zytotoxische Wirkung und zytotoxische Mechanismen sowie die Ausscheidung konzentrieren. Obwohl einige Übersichtsartikel die Biokompatibilität und das Toxizitätsprofil von SPNMs sowohl auf zellulärer als auch auf tierischer Ebene beschreiben,^[23] konzentrieren sich die meisten Artikel auf therapeutische Wirksamkeit, bei der externe Stimuli (z.B. Licht und Ultraschall) eingesetzt werden. Bislang konnte die inhärente biologische Sicherheit von SPNMs noch nicht ausreichend geklärt werden; daher bleibt die Beantwortung der Frage nach dem Zusammenhang zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Toxizität von SPNMs noch eine große Herausforderung.

In diesem Übersichtsartikel geben wir eine umfassende Zusammenfassung der bisherigen Studien über Mechanismen und regulierende Faktoren der endogenen In-vitro- und In-vivo-Toxizität von SPNMs, wobei insbesondere die uneindeutigen und umstrittenen Ergebnisse dargelegt werden. Ein regelbasiertes maschinelles Lernmodell mittels Assoziationsanalyse wurde genutzt, um die gemeldeten Toxizitätsdaten umfangreich auszuwerten. Dabei zeigte sich, dass experimentelle Methoden, laterale Größe und Inkubationszeit die wichtigsten Faktoren bei der Bestimmung der Zellviabilität von SPNMs sind. Darüber hinaus wurden jeweils die Wechselwirkungen zwischen SPNMs und biologischen Systemen auf zellulärer Ebene und in Bezug auf den gesamten Organismus untersucht (Abbildung 2). Des Weiteren werden die Leitlinien für künftige Studien sowie die Herausforderungen auf diesem Gebiet vorgestellt. Diese Übersicht präsentiert einen umfassenden Einblick in die Zytotoxizität, den intrazellulären und In-vivo-Verlauf sowie andere biologische Wirkungen, die nicht nur das Bewusstsein für dieses neue Material schärfen, sondern auch die Entwicklung von Regulierungsgrundsätzen zur Verringerung der potenziell schädlichen Exposition voranbringen können.

2. Umstrittene Zytotoxizität von SPNMs

Obwohl die Anwendung von SPNMs umfassend untersucht wurde, reichen die derzeitigen toxikologischen Studien nicht aus, um ein systematisches Verständnis bezüglich ihrer biologischen Sicherheit auf Zell- und Organebene zu erlangen. Darüber hinaus sind die gemeldeten Toxizitätsergebnisse unterschiedlich. Einige Studien behaupten, dass SPNMs selbst bei Konzentrationen von einigen Hundert mg mL^{-1} biokompatibel seien, wohingegen andere Studien die nachteiligen Auswirkungen auf die Lebensfähigkeit einer Viel-

zahl von Zelltypen belegen. So wiesen Zhang et al. durch Annexin-V-FITC/PI-Markierung von HeLa-Zellen nach, dass nur 37 % nach 24-stündiger Inkubation mit $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ SPQPs lebensfähig waren.^[18d] Im Gegensatz dazu konnte bei einer Konzentration von bis zu 1.0 mg mL^{-1} nach 12-stündiger Inkubation mittels MTT-Tests keine toxische Wirkung beobachtet werden.^[15a] Darüber hinaus wurde gegenüber Raw264.7-Zellen keinerlei Zytotoxizität gezeigt, während gegenüber J774A.1-Zellen eine signifikante ATP-Abnahme erfasst wurde.^[18a]

Ähnlich wie SPQPs zeigten auch LSPs gegensätzliche Auswirkungen auf die Lebensfähigkeit der Zellen, obwohl die Schlüsselfaktoren (laterale Größe, Zelltyp und Toxizitätstest) konstant gehalten wurden.^[18b,c,21] Diese kontroversen Ergebnisse könnten auf die unterschiedlichen Inkubationszeiten und -dicken von LSP zurückzuführen sein. Zum Beispiel zeigen LSPs (laterale Größe von 200 nm, Dicke von 5.5 nm) nach 24-stündiger Inkubation eine geringere Zytotoxizität gegenüber HeLa-Zellen^[18c] als LSPs (laterale Größe von 200 nm, Dicke von 10 nm) nach 48-stündiger Inkubation mit IC_{50} -Werten von $< 2 \mu\text{g mL}^{-1}$.^[18b,e] Unerwartet trat diese Diskrepanz auch bei PEGylierten LSPs (SP-PEG) auf. In MTT- und CCK-8-Assays zeigen sie gegenüber verschiedenen Zelllinien (z.B. HeLa, MCF-7, HepG2, PC3 und A375) eine Biokompatibilität bis zu einer Konzentration von $100 \mu\text{g mL}^{-1}$.^[14b] Bei höheren Konzentrationen ($> 200 \mu\text{g mL}^{-1}$) konnte eine selektive Toxizität mittels eines Resazurin-Assays gegenüber HeLa-Zellen beobachtet werden, nicht aber gegenüber D551-Zellen.^[19] Daher gehen wir davon aus, dass zusätzlich zu den bereits bekannten Faktoren, die für die Zytotoxizitätsergebnisse von Bedeutung sind, auch die Methoden zur Bewertung der Toxizität einen erheblichen Einfluss auf die Ergebnisse haben.

Für die Zytotoxizitätsbewertung von LSP verglichen Pumera et al. fünf übliche Toxizitätsassays miteinander, darunter drei Tetrazolium-Salz-basierte Assays (MTT, WST, XTT) und zwei Tetrazolium-Salz-freie Assays (Lactatdehydrogenase (LDH) und Multi-Tox Glo).^[24] Zur Überprüfung der Genauigkeit dieser Assays wurden die Zellen mittels Annexin V-FITC/PI markiert. Dabei stellten die Autoren fest, dass LSP eine konzentrationsabhängige Interferenz mit den Hintergrundsignalen der Tetrazolium-Salz-basierten Assays hervorrufen kann, welche durch eine Reduktion oder Adsorption von Assay-Reagenzien verursacht werden könnte.^[16,25] Dieses Phänomen wurde auch bei Nanomaterialien auf Kohlenstoffbasis,^[26] Edelmetall-Nanopartikeln,^[27] Siliciumdioxid-Nanopartikeln^[28] und Quantenpunkten beobachtet.^[29] In unserer jüngsten Studie wurde eine markierungsfreie Echtzeit-Zellanalysetechnik eingeführt, die keine fluoreszierenden oder kolorimetrischen Reagenzien benötigt, um die Zytotoxizität von LSP zu bewerten.^[17] Wir fanden heraus, dass die Zytotoxizität von LSP ein zeit-, größen-, konzentrations- und zelltypabhängiges Profil aufweist.

Entsprechend der Literatur reduzieren Oberflächenmodifikationen die Zytotoxizität von SPNMs.^[18a,30] So verringerte beispielsweise die TiL_4 -Modifikation ($\text{TiL}_4@\text{SPs}$) die Toxizität von SPQPs in Raw264.7-Zellen aufgrund der umgekehrten Oberflächenladung und der höheren Stabilität

von TiL₄@SPs, was die zelluläre Aufnahme und Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) in den Zellen verminderte.^[18a] Die Funktionalisierung mit Polyglycerin verringerte die Toxizität von SPNMs jedoch signifikant.^[31] Darüber hinaus konnten Pumera et al. zeigen, dass sich unterschiedliche Syntheseverfahren (Grad der Abblätterung und Grad der Oxidation) auf die Eigenschaften und damit auch auf die Toxizitätsprofile auswirken.^[32] Sie stellten fest, dass dünnere Strukturen und ein höherer Oxidationsgehalt zu einer höheren Toxizität führten.

Bislang war es aufgrund der Vielfalt und Komplexität der Zytotoxizitätsergebnisse schwierig, eine allgemeine Schlussfolgerung zur Biosicherheit von SPNMs zu ziehen. Daher haben wir ein regelbasiertes maschinelles Lernmodell mittels Assoziationsanalyse genutzt, um eine umfassende Analyse der SPNM-bezogenen Toxizitätsdaten vorzunehmen. Aus vierzig Artikeln über die Zytotoxizität von SPNMs, die zwischen 2017 und 2021 veröffentlicht wurden, wurden 1257 Einträge extrahiert, die die Materialeigenschaften, den Zelltyp und die Versuchsbedingungen widerspiegeln. Die Daten zur Zellviabilität wurden in niedrige (< 50 %), mittlere (50–85 %) und hohe (> 85 %) Viabilität klassifiziert. Der A-priori-Algorithmus wurde mittels mlxtend (von engl. “machine learning extensions”) in der Python-Software ausgeführt, und die Assoziationsregeln wurden anhand von drei Parametern extrahiert: Unterstützung, Konfidenz und Auftrieb.

Bei einer Kombination A Antezedens (engl. antecedent) und B Konsequens (engl. consequent) ist Support die Wahrscheinlichkeit einer Kombination im Datensatz; Konfidenz ist der Anteil einer Kombination im Datensatz, die den Antezedens A enthält, der auch den Konsequens B enthält; Auftrieb ist das um den relativen Support der Kombination B bereinigte Konfidenz.^[33] Die wichtigsten Faktoren bei der Bestimmung der Zellviabilität sind experimentelle Methoden, laterale Größe und Inkubationszeit (Tabelle 1). Der MTT-Assay ergibt im Allgemeinen eine hohe Lebensfähigkeit (Konfidenz = 70 %, Auftrieb = 1.45). Bei einer lateralen Größe von 200 nm (Konfidenzintervall = 42 %, Auftrieb = 1.73) oder einer Inkubationszeit von 48 Stunden (Konfi-

denzintervall = 40.6 %, Auftrieb = 1.67) ist die Zellviabilität von LSP gering. Auch der Hersteller spielt eine Rolle, denn es zeigt sich, dass die SP-Kristalle von Smart-Elements hochgradig lebensfähige SPNMs produzieren (Konfidenz = 85 %, Lift = 1.76). Trotz der zahlreichen Daten zur Zytotoxizität muss in künftigen Studien noch eingehend untersucht werden, wie sich diese Faktoren auf die Zytotoxizität von SPNMs auswirken.

3. Zytotoxizitätsmechanismen der SPNMs

3.1. Lokale Störung der Plasmamembran

Die Plasmamembran ist die erste Grenzfläche zwischen Nanomaterial und Zelle und bildet damit das Haupthemmnis für das Eindringen von Nanomaterialien in Zellen.^[34] Die Plasmamembran besteht aus Lipiden, Proteinen und Kohlenhydraten und hat eine Dicke von 5–10 nm.^[35] Die Erhaltung der Membranintegrität ist eine Schlüsselfunktion der Plasmamembran. Wenn Nanomaterialien auf die Plasmamembran treffen, kann die Membranintegrität verändert werden und es kommt schließlich zur Auflösung der äußeren Zellmembran. In deren Folge tritt Lactatdehydrogenase (LDH) aus und stellt somit einen Indikator für die Integrität der Plasmamembran und folglich für die Lebensfähigkeit der Zelle dar. Sowohl die Exposition mit LSP als auch mit SPQPs konnte die Freisetzung von LDH in einer konzentrationsabhängigen Weise erhöhen, was auf eine Störung der Membran deutet.^[22]

Aufgrund der intrinsischen 2D-Morphologie können LSPs die Plasmamembran durchdringen. In einer früheren Studie haben wir eine Modellzellmembran auf Basis von zwitterionischen 1,2-Dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin (DOPC)-Vesikeln hergestellt, um die Wechselwirkungen von LSPs mit der Lipidmembran zu beobachten. Dazu haben wir die Quarzkristallmikrowaage mit Dissipations-Technologie (QCM-D) verwendet.^[17] Aufgrund der Störung der Modellzellmembran verursachten größere LSPs (laterale Größe von ≈ 900 nm) einen stetigen Frequenzanstieg und

Tabelle 1: Werte für Support-, Konfidenz- und Auftriebs-Assoziationsregeln zwischen Faktoren und Zellviabilität (signifikante Assoziationen werden auf der Grundlage von rangierten Lift-Werten mit Unterstützungswerten ≥ 0.1 angezeigt).

| Prämisse (Antezedens) | Viabilität | Support | Konfidenz | Auftrieb |
|--|------------|---------|-----------|----------|
| Quelle/Synthetische Methode = Smart-Elements | hoch | 0.107 | 0.854 | 1.76 |
| Laterale Größe [nm] = 200, Material = LSP | niedrig | 0.110 | 0.421 | 1.73 |
| Inkubationszeit [h] = 48, Material = LSP | niedrig | 0.104 | 0.406 | 1.67 |
| Laterale Größe [nm] = 200 | niedrig | 0.110 | 0.390 | 1.60 |
| Methode = MTT | hoch | 0.169 | 0.700 | 1.45 |
| Material = LSP | niedrig | 0.233 | 0.312 | 1.28 |
| Inkubationszeit [h] = 48 | niedrig | 0.106 | 0.297 | 1.22 |
| Methode = CCK-8 | mittel | 0.140 | 0.326 | 1.19 |
| Inkubationszeit [h] = 48 | mittel | 0.114 | 0.319 | 1.17 |
| Material = LSP, Methode = CCK-8 | mittel | 0.115 | 0.312 | 1.15 |
| Material = LSP, Inkubationszeit [h] = 24 | niedrig | 0.111 | 0.271 | 1.12 |
| Inkubationszeit [h] = 24, Methode = CCK-8 | hoch | 0.112 | 0.516 | 1.07 |
| Methode = CCK-8 | hoch | 0.216 | 0.502 | 1.04 |
| Inkubationszeit [h] = 24 | hoch | 0.258 | 0.500 | 1.03 |
| Material = LSP, Methode = CCK-8 | hoch | 0.181 | 0.491 | 1.02 |

eine Abnahme der Dissipation (Abbildung 3a). Im Gegensatz dazu veränderten kleine SPs (laterale Größe von ≈ 400 und ≈ 200 nm) die Signale nur geringfügig, was auf eine leichte Schädigung der Modellmembran hindeutet (Abbildung 3b, c). Die größenabhängige Membranschädigung könnte für die höhere Zytotoxizität der großen LSPs verantwortlich sein. Zhang et al. haben die molekularen Mechanismen der Wechselwirkungen zwischen Phosphor oder Phosphoroxid (PO) und der Lipidmembran durch groß angelegte Moleküldynamiksimulationen (MD) untersucht.^[18b,36] Die Ergebnisse zeigten, dass beide SPNMs in die Zellmembran eindringen und reichlich Phospholipide extrahieren konnten (Abbildung 3d). Der Oxidationsgrad war umgekehrt proportional zur Extraktionsfähigkeit (Abbildung 3e). Yu et al. konnten nach 24-stündiger Exposition gegenüber LSP keinen LDH-Austritt feststellen, obwohl diese Zeitspanne für die Internalisierung ausreichend war. Erst nach 48 Stunden wurde ein LDH-Austritt beobachtet, was darauf hindeutet, dass die intrazelluläre Bioaktivität von SPs für die proliferationshemmende Wirkung von LSP verantwortlich ist und nicht die physikalische Schädigung der Plasmamembran.^[18e]

3.2. Oxidativer Stress

Ein hohes Maß an oxidativem Stress führt zu Zytotoxizität. Nachdem sie von der Zelle internalisiert sind, können SPNMs intrazellulären oxidativen Stress fördern, indem sie die Überproduktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) induzieren. In einer früheren Studie berichteten wir, dass die Zytotoxizität von LSP teilweise von der ROS-Bildung abhängt.^[17] Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Zytotoxizität war die SP-vermittelte ROS-Bildung allerdings nicht größenabhängig. SP wurde für die photodynamische Therapie als Bindemittel und Photoinduktor für ROS untersucht.^[37] Mehrere Zellorganellen können an der ROS-Bildung beteiligt sein. Zhao et al. fanden heraus, dass die

Adsorption von Plasmaprotein an SPNMs die SP-induzierte ROS-Produktion in Makrophagen von 143.7 % auf 185.8 % für SPQPs bzw. von 159.9 % auf 215.2 % für LSP erhöhen konnte.^[30] Eine weitere wichtige Zellorganelle, die die Hauptquelle für intrazelluläre ROS darstellt, sind Mitochondrien.^[38] Als die LSP-Konzentration auf $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ anstieg, wurde die Integrität der Mitochondrien zerstört, wie das verringerte mitochondriale Membranpotenzial (MMP) und der ≈ 2.5 -fache Anstieg des intrazellulären ROS-Spiegels zeigen.^[39] Die geschädigten Mitochondrien könnten entweder das Ergebnis der überproduzierten ROS in der intrazellulären Matrix oder die Quelle des erhöhten intrazellulären ROS-Spiegels sein.^[40] Das antioxidative Abwehrsystem ist für die Beseitigung überschüssiger ROS verantwortlich. SPNMs könnten das antioxidative Abwehrsystem beeinträchtigen, indem sie die Superoxid-Dismutase (SOD)-Aktivität hemmen oder den Nrf2 (Nuclear factor E2 related factor-2)/HO-1 (Heme Oxygenase-1)-Antioxidationsweg verändern, was zu intrazellulärem oxidativem Stress führt.^[19,25] Die überproduzierten ROS aktivieren Caspase-3 und induzieren anschließend die Zellapoptose.^[39]

3.3. Stress des endoplasmatischen Retikulums

Das endoplasmatische Retikulum (ER) ist eine eukaryontische Zellorganelle, und die Aufrechterhaltung der internen Homöostase des ER ist wichtig für die Regulierung von Ionen, des grundlegenden Stoffwechsels und allgemein für die normale physiologische Funktion der Zellen.^[41] Das ER wird durch oxidativen Stress, Calciumungleichgewicht, Toxininvasion und andere Stressereignisse als Abwehrmechanismus aktiviert, um Zellschäden zu verringern.^[42] Anhaltender ER-Stress, der durch Nanomaterialien aktiviert wird, kann jedoch zum Zelltod führen.^[43] Kürzlich wiesen Zuo et al. nach, dass SPQPs über den ER-Stressweg Nierentoxizität auf Zell-, Gewebe- und Organismusebene verursa-

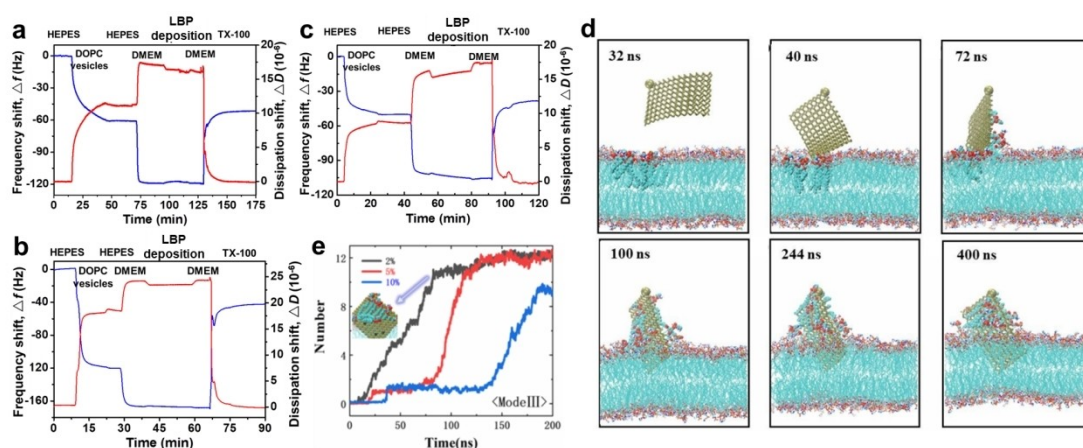


Abbildung 3. QCM-D-Messung. Änderungen der Frequenz (blau) und der Ableitung (rot) von DOPC-Vesikeln, die mit in Zellkulturmedium suspendiertem LSP mit unterschiedlichen lateralen Größen behandelt wurden: ≈ 900 nm (a), ≈ 400 nm (b) und ≈ 200 nm (c).^[17] Copyright 2017, John Wiley & Sons. d) Schnappschüsse des Prozesses der Lipidextraktion und der Insertion von Phosphor in die Membran auf Grundlage von MD-Simulationen.^[36] Copyright 2020, Royal Society of Chemistry. e) Zeitabhängige Extraktion von Phospholipidmolekülen durch PO mit einem Oxidationsgrad von 2%, 5 % und 10%.^[18b] Copyright 2021, American Chemical Society.

chen.^[44] Sie wiesen die Nephrotoxizität von SPQPs auf Zell-, Gewebe- und Organismusebene nach, indem sie menschliche HK2-Nierentubulusepithelzellen, Nierenorganoide und BALB/c-Mäuse verwendeten.

3.4. Verschiedene Arten des Zelltods

Es ist wichtig, bei der Bewertung der Zytotoxizität der SPNMs die verschiedenen Zelltodwege zu berücksichtigen. LPS könnte drei Hauptformen des programmierten Zelltods in Säugetierzellen auslösen: Apoptose, Autophagie und Ferroptose. LSP beeinträchtigt die Integrität der Mitochondrien, was zu einer Erhöhung des intrazellulären ROS-Spiegels führt, der die mit der Zellapoptose verbundenen nachgeschalteten Proteasen aktivieren könnte, z. B. Caspase-3.^[39] Mei et al. wiesen das Auftreten von Autophagie in Krebszellen unter der Behandlung mit BP-PEG nach.^[14b] Später bestätigte Yus Team weiter, dass LSP nicht nur Autophagie induzieren, sondern auch den autophagischen Fluss stören kann, was zum Zelltod führt.^[18e] Darüber hinaus induzierten SPQPs über die Hemmung der Demethylase (ALKBH5)-Expression den Ferroptose-Apoptose-Weg in einer vom Zelltyp abhängigen Weise.^[45]

4. In-vivo-Toxizität

Trotz der umfangreichen Untersuchungen und Anwendungen befinden sich die systematischen Untersuchungen zur Toxizität von SPNMs, insbesondere die der In-vivo-Verträglichkeit, noch in einem frühen Stadium. In diesem Abschnitt werden die neuesten Forschungsfortschritte zu den biologischen In-vivo-Effekten von SPNMs im Hinblick auf die intrakorporale Akkumulation und Biotoxizität zusammengefasst.

4.1. Biodistribution, Pharmakokinetik und Clearance von SPNMs

Ein wichtiger Ausscheidungsweg von Nanopartikeln im Blut führt über das wichtige mononukleare Phagozytensystem, das aus Leber und Milz besteht.^[46] Unter den modernen bildgebenden Verfahren sind Fluoreszenz- und photoakustische Bildgebung weit verbreitet, um die In-vivo-Biodistribution von SPNMs sichtbar zu machen. Sie verwenden die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen im nahen Infrarot (NIR) (Cy5, Cy5.5 und Cy7) oder nutzen direkt die intrinsische NIR-Absorption der SPNMs.^[14b,19,47] Darüber hinaus können mit der Einzel-Emissions-Computertomographie/Computertomographie-Bildgebung die In-vivo-Biodistribution und -Pharmakokinetik mit hoher Auflösung quantitativ analysiert werden, indem SPNMs mit radioaktivem Technetium-99m markiert werden.^[48] Die bildgebende Raman-Spektroskopie bietet durch sequenzielles Mapping eine weitere Möglichkeit, die Ex-vivo-Tumorakkumulation von SPNMs ohne Markierung direkt zu untersuchen.^[49]

Wie erwartet waren Leber und Milz die Hauptziele für die In-vivo-Akkumulation von SPNMs, da die Nanomaterialien in diesen Organen spontan von Makrophagen gebunden werden können.^[14b,18d,19,48,49] Neben Leber und Milz können auch Tumorgewebe aufgrund des verstärkten Permeations- und Retentions-Effekts (EPR) von SPNMs sequestrieren (Abbildung 4a).^[14b,19,49] Interessanterweise verliert die ähnliche Morphologie von LSP mit rechteckigen Origami-DNA-Nanostrukturen LSP die Fähigkeit, auf die Nieren abzuzeilen (Abbildung 4b).^[47] Neben den oben genannten Hauptzielorganen wurde auch eine geringe Verteilung von SPNMs in Lunge und Herz festgestellt.^[47-49]

Aufgrund des beträchtlichen intrinsischen Phosphorhintergrunds in Tieren ist es schwierig, den Phosphorgehalt in vivo direkt zu quantifizieren. Derzeit kann die Pharmakokinetik von SPNMs jedoch durch Überwachung der Fluoreszenzintensität oder der Radioaktivität von Fluoreszenz bzw. Radioisotop-markierten SPNMs beobachtet werden.^[47-49] Derzeit folgen SPNMs einem Zwei-Kompartiment-Modell zur Reinigung des Kreislaufsystems. Die erste Phase (Verteilungsphase) zeigt einen raschen Rückgang mit einer Halbwertszeit im Kreislauf von 1.3 min bis 1.16 h. Die zweite Phase (Eliminationsphase), die die Clearance von SPNMs aus dem Blut darstellt, hat eine längere Halbwertszeit von 125.7 min bis 18.45 h.

Die Intensität der markierten SPNMs in den wichtigsten Organen nahm in den ersten Stunden nach der Injektion zu, erreichte ein Maximum und nahm dann aufgrund der Ausscheidung allmählich wieder ab. Die In-vivo-Experimente zeigten, dass die Ausscheidung von SPNMs hauptsächlich über den Urin erfolgte, der Abbauprodukte (PO_4^{3-} -Spezies) enthielt (Abbildung 4c).^[18d,50] Aufgrund der akuten Nierenschädigung (AKI) der Mäuse konnte der LSP nicht bzw. nur bedingt abgebaut werden, was zu einer längeren Verweildauer von LSP in der Niere führt. Dies zeigt die ROS-reinigende Eigenschaft für die therapeutische Anwendung von AKI mittels der Abschwächung der durch oxidativen Stress induzierten Zellapoptose in Geweben (Abbildung 4d).^[47] Die derzeitigen Methoden für die In-vivo-Quantifizierung von SPNMs sind jedoch stark eingeschränkt, wenn man die Stabilität und Integrität der markierten SPNMs berücksichtigt. Daher ist die Entwicklung genauerer und zuverlässigerer quantitativer Verfahren zur Überwachung der Biodistribution und Clearance von SPNMs äußerst wünschenswert.

4.2. Biochemische, hämatologische und histologische Veränderungen durch SPNMs

Obwohl zahlreiche In-vitro-Studien erste Informationen für die Bewertung der biologischen Sicherheit von SPNMs geliefert haben, können diese Ergebnisse nicht für alle Zelltypen und Organe abgeleitet werden. Daher ist es unerlässlich, die Toxizität von SPNMs in Tiermodellen zu bewerten, insbesondere im Hinblick auf die Veränderungen der biochemischen, hämatologischen und histologischen Parameter.

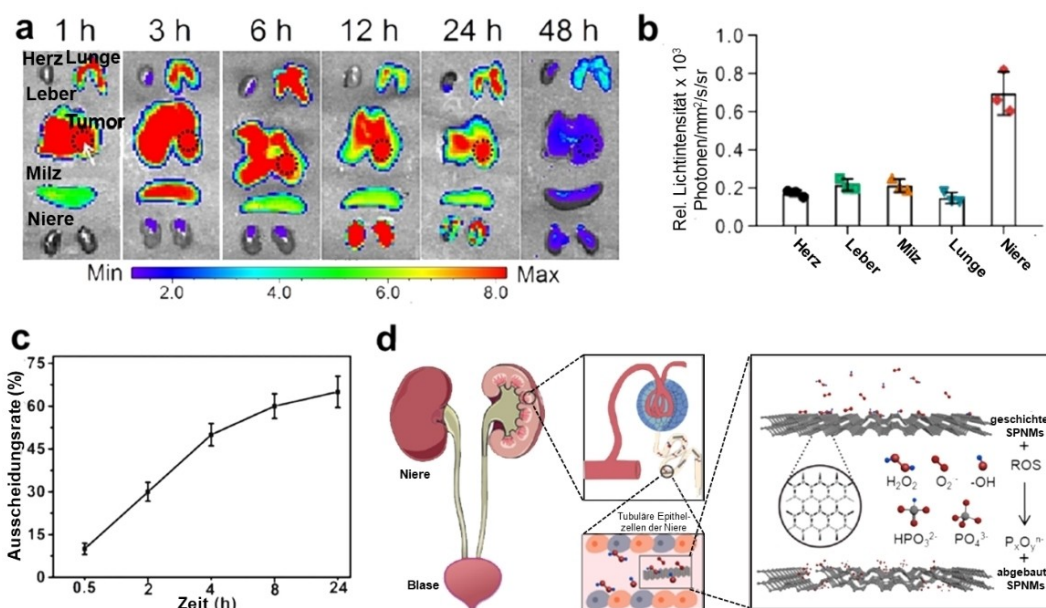


Abbildung 4. a) Ex-vivo-Fluoreszenzbilder der Hauptorgane von Nacktmäusen, die einen orthotopen Lebertumor tragen und mit Cy5,5-markiertem LBP behandelt wurden,^[49] Copyright 2020, Ivyspring International Publisher. b) Quantitatives Fluoreszenzsignal von Cy5-markiertem LSP in Mäusen,^[47] Copyright 2020, American Chemical Society. c) Renale Clearance von SPQPs, bestimmt durch den zeitabhängigen Phosphorgehalt im Urin,^[50] Copyright 2018, John Wiley & Sons. d) Schematische Darstellung der renalen Akkumulation und Heilung einer AKI durch LSP durch Abfangen von ROS,^[47] Copyright 2020, American Chemical Society.

Sowohl SPQPs als auch LSP induzierten in vivo vorübergehende toxikologische Reaktionen ohne langfristige Auswirkungen.^[18a,d,51] Einen Tag nach der Injektion verursachten SPQPs bei männlichen C57BL/6-Mäusen eine Reihe toxischer Reaktionen, darunter Lipidperoxidation, reduzierte Katalaseaktivität, DNA-Schädigung und eine Abnahme der kernhaltigen Zellen im Knochenmark. Diese Nebenwirkungen nahmen nach 7 Tagen wieder ab und kehrten nach 30 Tagen fast wieder auf das normale Niveau zurück. In einer analogen Studie entdeckten Yang et al. zeitabhängige Veränderungen von entzündlichen Zytokinen (TNF- α und IL-1 β) durch SPNMs, die dem Prozess der Zunahme (1 Tag), Abnahme (3 Tage) und Erholung (7 Tage) folgten.^[51] Allerdings wurde die Anhäufung von CD68⁺-Zellen (bezogen auf Makrophagen und weiße Blutkörperchen) in der Lunge sogar nach 7 und 28 Tagen beobachtet, was auf die Empfindlichkeit der Lunge gegenüber LSP-Exposition hinweist.^[18a] Im Widerspruch zu der oben genannten Schlussfolgerung, dass LSP in vivo reversible toxische Wirkungen hat, steht die Entdeckung von Tao et al., die in vivo selektive Abtötung von Krebszellen durch BP-PEG, ohne andere Organe zu schädigen, beobachteten.^[19] Der tumortötende Effekt wurde auf die überschüssige Menge an ROS zurückgeführt, die durch BP-PEG in den Tumoren erzeugt wurde, was zu schwerwiegenden irreparablen DNA-Schäden und Apoptose führte.^[18b]

Zur histologischen Beurteilung wurden die wichtigsten Organe wie Herz, Leber, Milz, Lunge und Nieren mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) angefärbt. Die meisten der aktuellen Studien zeigten, dass die Verabreichung von SP keine offensichtlichen Schäden oder entzündlichen Läsionen

an den wichtigsten Organen verursachte.^[14b,18c,d,39,47,49] Es gab auch einige abweichende Ergebnisse. Zum Beispiel könnten SPQPs bei Mäusen eine Nierenschädigung verursachen, da in den H&E-Färbbildern eine erhöhte neutrophile Infiltration und Tubulus-Degeneration beobachtet wurden.^[44] Darüber hinaus wurde anhand der gefärbten Bilder deutlich, dass SPNMs in der Lunge auftraten, was zu Zellapoptose führte. Dies zeigten die Ergebnisse der durch terminale Desoxynukleotidyltransferase (Tdt) vermittelten Desoxyuridintriphosphat-Nick-End-Markierung.^[25]

Tierstudien, die die Bioverträglichkeit von SPNMs bewerten, sind nicht zu einheitlichen und endgültigen Schlussfolgerungen hinsichtlich ihrer biologischen In-vivo-Wirkungen gelangt, z.B. wie der Syntheseprozess, die physikalisch-chemischen Eigenschaften (Größe, Morphologie und Oberflächenmodifikation), die Dosierung und die Art der Exposition das In-vivo-Verhalten von SPNMs beeinflussen. Außerdem sind Langzeituntersuchungen erforderlich, insbesondere für künftige therapeutische Anwendungen.

4.3. Andere biologische Wirkungen

Neben der direkten Toxizität für Säugetierzellen können SPNMs auch die normalen physiologischen Funktionen stören und bestimmte biologische Wirkungen hervorrufen. Es ist plausibel, dass die Nieren die Zielorgane von SPQPs sind, da die renale Clearance der Hauptweg für die Ausscheidung ultrakleiner Partikel ist.^[52] Die Proteinkorona auf SPQPs vergrößert jedoch den Durchmesser von 5.6 auf 362.5 nm aufgrund der Bildung sperriger Partikel erheb-

lich,^[30] was zur Akkumulation von SPQPs in der Niere führt. Daher untersuchten Zuo et al. die Beeinträchtigung der Nierenfunktion durch SPQPs mit HK2-Zellen.^[44]

5. Zukunftsperspektiven

Angesichts der enormen Fortschritte bei der Erforschung und Herstellung von SPNMs und der vermehrten Verwendung geben die Freisetzung in die Umwelt und erhöhte Exposition des Menschen Anlass zur Sorge hinsichtlich der gesundheitlichen Auswirkungen. Das macht eine Bewertung der biologischen Auswirkungen von SPNMs erforderlich. Derzeit gibt es zwei unterschiedliche Meinungen über die Toxizität von SPNMs. In der Anfangsphase wurden sie immer als nicht toxisch angesehen, insbesondere in biomedizinischen Studien. Spätere Studien zeigen jedoch, dass die Toxizität und biologischen Auswirkungen erheblich sind. Mehrere Faktoren können zu diesem zweifelhaften Umstand beitragen, wie z. B. nicht standardisierte Testprotokolle, verschiedene Zell- oder Tiermodelle und unterschiedliche physikochemische Eigenschaften von SPNMs, die aus verschiedenen Produktionsprozessen stammen. Infolgedessen konnte bis heute keine endgültige Schlussfolgerung über die biologische Sicherheit von SPNMs gemacht werden.

In diesem Übersichtsartikel haben wir die biologischen Reaktionen auf Körper-, Gewebe-, Zell- und Molekularebene zusammengefasst, die sich aus den intrinsischen Eigenschaften von SPNMs und ihren Wechselwirkungen mit den biologischen Systemen ergeben. Der dynamische Prozess der Dimensionsänderungen von SPNMs sollte auch mit deren biologischen Effekten in Verbindung gebracht werden. Dementsprechend sollte das Verständnis des Einflusses des Abbauprozesses und der daraus resultierenden Abbauprodukte von großer Bedeutung sein. Die Aufklärung scheitert derzeit jedoch an präzisen und Echtzeit-Technologien zur Beobachtung des intrazellulären biologischen Abbauprozesses von SPNMs.

Die intrazelluläre Wanderung der SPNMs löst eine Reihe von Zellreaktionen aus, darunter morphologische Veränderungen, Störungen der Plasmamembran, oxidativer Stress, Lipidperoxidation, ER-Stress, Matrix-Metalloproteasen (MMP)-Abnahme, Lysosomenleckage, Ca^{2+} -Fluss, Caspase-Aktivierung, Zellzyklus-Stillstand, Autophagie-Dysfunktion, proinflammatorische Effekte, DNA-Schäden und Zelltod. Die Beziehung zwischen den Eigenschaften von SPNMs und den verschiedenen Zelltypen mit den biologischen Ergebnissen ist jedoch noch nicht ausreichend geklärt.

Neben den In-vitro-Untersuchungen wurden auch das In-vivo-Verhalten (Biodistribution, Pharmakokinetik und Ausscheidung) und die toxikologischen Wirkungen (Auswirkungen auf die Blutbiochemie, Gewebe- oder Organpathologie und das Immunsystem) von SPNMs bestätigt. Aufgrund der körpereigenen Immunabwehr reichern sich SPNMs in der Leber und der Milz an. Darüber hinaus deutet die Bioakkumulation in Tumoren aufgrund des EPR-Effekts darauf hin, dass SPNMs ein potenzielles Mittel gegen Krebs sein könnten. Obwohl die Pharmakokinetik der SPNMs einem typischen Zwei-Kompartiment-Modell

folgt und die renale Ausscheidung ihr wichtigster Ausscheidungsweg ist, bleibt der intrakorporale Transformationsprozess von SPNMs aufgrund der technologischen Grenzen ungeklärt. Darüber hinaus wurden mehrere kontroverse Ergebnisse zu ihren toxikologischen In-vivo-Wirkungen diskutiert. Insbesondere wurden die meisten Tierversuche durch intravenöse Injektion von SPNMs durchgeführt. Die Eintrittspforte in den Körper ist jedoch ein Schlüsselfaktor für die Bestimmung des biologischen Umfelds (pH-Wert, Biomoleküle und Zellpopulation) für die Biotransformation von SPNMs, was ihr Schicksal beeinflussen kann. Daher sollten die Expositionswege bei der In-vivo-Biosicherheitsbewertung von SPNMs nicht außer Acht gelassen werden.

Obwohl die Erforschung des biologischen In-vitro- und In-vivo-Verhaltens und der toxikologischen Informationen noch in den Kinderschuhen stecken, wurden die potenziellen Auswirkungen von SPNMs auf die menschliche Gesundheit bereits beobachtet und verdienen eine systematischere Untersuchung, nicht nur aus biomedizinischer Sicht, sondern auch im Hinblick auf die Entwicklung sichererer Materialien und Anwendungen.

Danksagung

Diese Arbeit wurde von der National Natural Science Foundation of China unterstützt (Nr. 42192574, 42022056, 42277423, 41877389, 42077394, 22176196), GDAS' Project of Science and Technology Development (2022GDASZH-2022010105, 2020GDASYL-20200101002), Revitalize Liaoning Talents Program (XLYC1907136, XLYC1907118, XLYC2007124), Liaoning BaiQianWan Talents Program und Liaoning Province Natural Science Foundation (2020-YQ-10). Die Autoren möchten Taylor Page für das Korrekturlesen des Manuskripts und Dr. Wiebke Fischer und Anja Kerer für die deutsche Übersetzung danken. Open Access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Stichwörter: Biologische Effekte · Intrinsische chemische Aktivität · Schwarzer Phosphor · Toxizitätsmechanismus · Umweltexposition

-
- [1] P. W. Bridgman, *J. Am. Chem. Soc.* **1914**, *36*, 1344–1363.
 - [2] A. S. Rodin, A. Carvalho, A. H. Castro Neto, *Phys. Rev. Lett.* **2014**, *112*, 176801.
 - [3] S. Appalakondaiah, G. Vaitheeswaran, S. Lebègue, N. E. Christensen, A. Svane, *Phys. Rev. B* **2012**, *86*, 035105.
 - [4] L. Li, Y. Yu, G. J. Ye, Q. Ge, X. Ou, H. Wu, D. Feng, X. H. Chen, Y. Zhang, *Nat. Nanotechnol.* **2014**, *9*, 372–377.
 - [5] A. Castellanos-Gomez, L. Vicarelli, E. Prada, J. O. Island, K. L. Narasimha-Acharya, S. I. Blanter, D. J. Groenendijk, M.

- Buscema, G. A. Steele, J. V. Alvarez, H. W. Zandbergen, J. J. Palacios, H. S. J. van der Zant, *2D Mater.* **2014**, *1*, 025001.
- [6] D. Hanlon, C. Backes, E. Doherty, C. S. Cucinotta, N. C. Berner, C. Boland, K. Lee, A. Harvey, P. Lynch, Z. Gholamv-and, S. Zhang, K. Wang, G. Moynihan, A. Pokle, Q. M. Ramasse, N. McEvoy, W. J. Blau, J. Wang, G. Abellan, F. Hauke, A. Hirsch, S. Sanvito, D. D. O'Regan, G. S. Duesberg, V. Nicolosi, J. N. Coleman, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8563.
- [7] P. Yasaee, B. Kumar, T. Foroozan, C. Wang, M. Asadi, D. Tuschel, J. E. Indacochea, R. F. Klie, A. Salehi-Khojin, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 1887–1892.
- [8] W. Zheng, J. Lee, Z.-W. Gao, Y. Li, S. Lin, S. P. Lau, L. Y. S. Lee, *Adv. Energy Mater.* **2020**, *10*, 1903490.
- [9] H. Kim, S. Z. Uddin, D.-H. Lien, M. Yeh, N. S. Azar, S. Balendhran, T. Kim, N. Gupta, Y. Rho, C. P. Grigoropoulos, K. B. Crozier, A. Javey, *Nature* **2021**, *596*, 232–237.
- [10] J. Chen, Y. Yang, S. Zhao, F. Bi, L. Song, N. Liu, J. Xu, Y. Wang, X. Zhang, *ACS Catal.* **2022**, *12*, 8069–8081.
- [11] T. Wu, Z. Ma, Y. He, X. Wu, B. Tang, Z. Yu, G. Wu, S. Chen, N. Bao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 10366–10374; *Angew. Chem.* **2021**, *133*, 10454–10462.
- [12] K. Hu, L. Xie, Y. Zhang, M. Hanyu, Z. Yang, K. Nagatsu, H. Suzuki, J. Ouyang, X. Ji, J. Wei, H. Xu, O. C. Farokhzad, S. H. Liang, L. Wang, W. Tao, M.-R. Zhang, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 2778.
- [13] a) B. Tian, B. Tian, B. Smith, M. C. Scott, Q. Lei, R. Hua, Y. Tian, Y. Liu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, 4345–4350; b) M. Wen, J. Wang, R. Tong, D. Liu, H. Huang, Y. Yu, Z.-K. Zhou, P. K. Chu, X.-F. Yu, *Adv. Sci.* **2019**, *6*, 1801321.
- [14] a) W. Chen, J. Ouyang, H. Liu, M. Chen, K. Zeng, J. Sheng, Z. Liu, Y. Han, L. Wang, J. Li, L. Deng, Y.-N. Liu, S. Guo, *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1603864; b) W. Tao, X. Zhu, X. Yu, X. Zeng, Q. Xiao, X. Zhang, X. Ji, X. Wang, J. Shi, H. Zhang, L. Mei, *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1603276.
- [15] a) H. U. Lee, S. Y. Park, S. C. Lee, S. Choi, S. Seo, H. Kim, J. Won, K. Choi, K. S. Kang, H. G. Park, H.-S. Kim, H. R. An, K.-H. Jeong, Y.-C. Lee, J. Lee, *Small* **2016**, *12*, 214–219; b) H. Wang, X. Yang, W. Shao, S. Chen, J. Xie, X. Zhang, J. Wang, Y. Xie, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 11376–11382; c) Z. Sun, H. Xie, S. Tang, X.-F. Yu, Z. Guo, J. Shao, H. Zhang, H. Huang, H. Wang, P. K. Chu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 11526–11530; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 11688–11692.
- [16] N. M. Latiff, W. Z. Teo, Z. Sofer, A. C. Fisher, M. Pumera, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 13991–13995.
- [17] X. Zhang, Z. Zhang, S. Zhang, D. Li, W. Ma, C. Ma, F. Wu, Q. Zhao, Q. Yan, B. Xing, *Small* **2017**, *13*, 1701210.
- [18] a) G. Qu, W. Liu, Y. Zhao, J. Gao, T. Xia, J. Shi, L. Hu, W. Zhou, J. Gao, H. Wang, Q. Luo, Q. Zhou, S. Liu, X.-F. Yu, G. Jiang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 14488–14493; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 14680–14685; b) X. Shao, Z. Ding, W. Zhou, Y. Li, Z. Li, H. Cui, X. Lin, G. Cao, B. Cheng, H. Sun, M. Li, K. Liu, D. Lu, S. Geng, W. Shi, G. Zhang, Q. Song, L. Chen, G. Wang, W. Su, L. Cai, L. Fang, D. T. Leong, Y. Li, X.-F. Yu, H. Li, *Nat. Nanotechnol.* **2021**, *16*, 1150–1160; c) W. Chen, J. Ouyang, X. Yi, Y. Xu, C. Niu, W. Zhang, L. Wang, J. Sheng, L. Deng, Y.-N. Liu, S. Guo, *Adv. Mater.* **2018**, *30*, 1703458; d) X. Mu, J.-Y. Wang, X. Bai, F. Xu, H. Liu, J. Yang, Y. Jing, L. Liu, X. Xue, H. Dai, Q. Liu, Y.-M. Sun, C. Liu, X.-D. Zhang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 20399–20409; e) W. Zhou, T. Pan, H. Cui, Z. Zhao, P. K. Chu, X.-F. Yu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 769–774; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 779–784.
- [19] N. Kong, X. Ji, J. Wang, X. Sun, G. Chen, T. Fan, W. Liang, H. Zhang, A. Xie, O. C. Farokhzad, W. Tao, *Nano Lett.* **2020**, *20*, 3943–3955.
- [20] W. Fu, W. Zhou, P. K. Chu, X.-F. Yu, *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 10995–11006.
- [21] W. Zhou, H. Cui, L. Ying, X.-F. Yu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 10268–10272; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 10425–10429.
- [22] F. Ruan, R. Liu, K. Wang, J. Zeng, Z. Zuo, C. He, Y. Zhang, *J. Hazard. Mater.* **2021**, *402*, 122875.
- [23] a) M. Luo, T. Fan, Y. Zhou, H. Zhang, L. Mei, *Adv. Funct. Mater.* **2019**, *29*, 1808306; b) G. Qu, T. Xia, W. Zhou, X. Zhang, H. Zhang, L. Hu, J. Shi, X.-F. Yu, G. Jiang, *Chem. Rev.* **2020**, *120*, 2288–2346; c) N. Wu, X. Wang, C. M. Das, M. Ma, N. Qiao, T. Fan, H. Zhang, G. Xu, K.-T. Yong, *Environ. Sci. Nano* **2021**, *8*, 3452–3477; d) G. Zeng, Y. Chen, *Acta Biomater.* **2020**, *118*, 1–17; e) X. Qian, Z. Gu, Y. Chen, *Mater. Horiz.* **2017**, *4*, 800–816.
- [24] M. Fojtů, J. Balvan, M. Raudenská, T. Vičar, D. Bouša, Z. Sofer, M. Masařík, M. Pumera, *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 349–360.
- [25] Y. Zhong, Y. Lin, Y. Chen, G. Chen, J. Zhang, L. Li, A. Huang, L. Zhang, Y. Ma, Z.-y. Xie, Q. Liao, *ACS Appl. Bio Mater.* **2021**, *4*, 1704–1719.
- [26] J. M. Wörle-Knirsch, K. Pulskamp, H. F. Krug, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 1261–1268.
- [27] K. B. Riaz Ahmed, A. M. Nagy, R. P. Brown, Q. Zhang, S. G. Malghan, P. L. Goering, *Toxicol. in Vitro* **2017**, *38*, 179–192.
- [28] F. Abbasi, H. Hashemi, M. R. Samaei, A. SavarDashtaki, A. Azhdarpoor, M. J. Fallahi, *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 15133.
- [29] C. Wu, L. Shi, Q. Li, H. Jiang, M. Selke, L. Ba, X. Wang, *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 82–88.
- [30] J. Mo, Q. Xie, W. Wei, J. Zhao, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2480.
- [31] O. Bawadkji, M. Cherri, A. Schäfer, S. Herziger, P. Nickl, K. Achazi, I. S. Donskyi, M. Adeli, R. Haag, *Adv. Mater. Interf. Faces* **2022**, *9*, 2201245.
- [32] N. Mohamad Latiff, C. C. Mayorga-Martinez, Z. Sofer, A. C. Fisher, M. Pumera, *Appl. Mater. Res.* **2018**, *13*, 310–319.
- [33] S. W. Brubaker, K. S. Bonham, I. Zanoni, J. C. Kagan, *Annu. Rev. Immunol.* **2015**, *33*, 257–290.
- [34] S. Patel, J. Kim, M. Herrera, A. Mukherjee, A. V. Kabanov, G. Sahay, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2019**, *144*, 90–111.
- [35] F. M. Goñi, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2014**, *1838*, 1467–1476.
- [36] W. Zhang, Y. Chen, T. Huynh, Y. Yang, X. Yang, R. Zhou, *Nanoscale* **2020**, *12*, 2810–2819.
- [37] M. Peruzzini, R. Bini, M. Bolognesi, M. Caporali, M. Ceppatelli, F. Cicogna, S. Coiai, S. Heun, A. Ienco, I. I. Benito, A. Kumar, G. Manca, E. Passaglia, D. Scelta, M. Serrano-Ruiz, F. Telesio, S. Toffanin, M. Vanni, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2019**, 1476–1494.
- [38] X. Ma, L.-H. Zhang, L.-R. Wang, X. Xue, J.-H. Sun, Y. Wu, G. Zou, X. Wu, P. C. Wang, W. G. Wamer, J.-J. Yin, K. Zheng, X.-J. Liang, *ACS Nano* **2012**, *6*, 10486–10496.
- [39] Y. Sun, S. Fan, S. Fan, C. Li, Z. Shang, M. Gu, S. Liang, X. Tian, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2020**, *20*, 659–667.
- [40] A. Abdal Dayem, M. K. Hossain, S. B. Lee, K. Kim, S. K. Saha, G.-M. Yang, H. Y. Choi, S.-G. Cho, *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 120.
- [41] B. D. Roussel, A. J. Kruppa, E. Miranda, D. C. Crowther, D. A. Lomas, S. J. Marciniak, *Lancet Neurol.* **2013**, *12*, 105–118.
- [42] J. Han, S. H. Back, J. Hur, Y.-H. Lin, R. Gildersleeve, J. Shan, C. L. Yuan, D. Krokowski, S. Wang, M. Hatzoglou, M. S. Kilberg, M. A. Sartor, R. J. Kaufman, *Nat. Cell Biol.* **2013**, *15*, 481–490.
- [43] R. Chen, L. Huo, X. Shi, R. Bai, Z. Zhang, Y. Zhao, Y. Chang, C. Chen, *ACS Nano* **2014**, *8*, 2562–2574.
- [44] C. He, F. Ruan, S. Jiang, J. Zeng, H. Yin, R. Liu, Y. Zhang, L. Huang, C. Wang, S. Ma, Z. Zuo, *Small* **2020**, *16*, 2001371.
- [45] F. Ruan, J. Zeng, H. Yin, S. Jiang, X. Cao, N. Zheng, C. Han, C. Zhang, Z. Zuo, C. He, *Small Methods* **2021**, *5*, 2001045.

- [46] D. Peer, J. M. Karp, S. Hong, O. C. Farokhzad, R. Margalit, R. Langer, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 751–760.
- [47] J. Hou, H. Wang, Z. Ge, T. Zuo, Q. Chen, X. Liu, S. Mou, C. Fan, Y. Xie, L. Wang, *Nano Lett.* **2020**, *20*, 1447–1454.
- [48] C. Sun, Y. Xu, L. Deng, H. Zhang, Q. Sun, C. Zhao, Z. Li, *ACS Appl. Bio Mater.* **2018**, *1*, 673–682.
- [49] S. Geng, T. Pan, W. Zhou, H. Cui, L. Wu, Z. Li, P. K. Chu, X. F. Yu, *Theranostics* **2020**, *10*, 4720–4736.
- [50] T. Guo, Y. Wu, Y. Lin, X. Xu, H. Lian, G. Huang, J.-Z. Liu, X. Wu, H.-H. Yang, *Small* **2018**, *14*, 1702815.
- [51] H. Qin, J. Chen, Y. Li, L. Gao, J. Wang, G. Qu, M. Yang, X. Zhou, Z. Sun, *Sci. Total Environ.* **2021**, *782*, 146860.
- [52] H. Soo Choi, W. Liu, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. Itty Ipe, M. G. Bawendi, J. V. Frangioni, *Nat. Biotechnol.* **2007**, *25*, 1165–1170.

Manuskript erhalten: 9. September 2022

Akzeptierte Fassung online: 11. Oktober 2022

Endgültige Fassung online: 13. Dezember 2022