華東理工大學学报 自然科学版 Natural Science Edition
JOURNAL OF EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

三苯基磷修饰花菁 H-聚集体靶向增强光热治疗

魏斯文 侯浩然 宋锋玲

Triphenylphosphine Modified Cyanine H-Aggregates for Targeted Enhanced Photothermal Therapy

WEI Siwen, HOU Haoran, SONG Fengling

在线阅读 View online: http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20250516001

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

用于肿瘤靶向治疗的双药递送、多重环境响应型核交联胶束

Multiple Stimuli-Responsive and Core-Crosslinked Micelles for Tumor-Targeted Delivery of Dual Drugs

华东理工大学学报（自然科学版）. 2024, 50(4): 469-480 http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20230613001

靶向PD-1的多肽阻断剂的设计及评价

Design and Evaluation of Peptide Blockers Targeting PD-1

华东理工大学学报（自然科学版）. 2020, 46(1): 35-40 http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20181126003

靶向心肌组织的新型腺相关病毒载体的构建及筛选

Construction and Screening of A Novel Adeno-Associated Virus Vector Targeting Myocardial Tissue

华东理工大学学报（自然科学版）. 2021, 47(3): 284-291 http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20200313002

负载钯簇的氧化硅基杂化胶束的制备及性能

Preparation and Performance of Palladium Clusters-Loaded Silica-Based Hybrid Micelles

华东理工大学学报（自然科学版）. 2023, 49(4): 498-507 http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20220424001

人体肝脏靶向性新型AAV血清型载体的研发

Development of a Novel AAV Serotype Vector for Human Targeted Liver

华东理工大学学报（自然科学版）. 2020, 46(3): 404-410 http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20190312002

抗生素负载型二硫化钼-糖基酰亚胺自组装体系构建及抗菌研究

Construction and Antibacterial Application of 2D MoS_2-Glycoperylenediimide Antibiotic-Loading System

华东理工大学学报（自然科学版）. 2021, 47(2): 195-201 http://doi.org/10.14135/j.cnki.1006-3080.20191130002

扫码关注公众号，获取更多信息！

文章编号：1006-3080(2026)01-0001-15 DOI：10.14135/j.cnki.1006-3080.20250516001

三苯基磷修饰花菁 H-聚集体靶向增强光热治疗

魏斯文[1,2]， 侯浩然[2]， 宋锋玲[1,2]
（1. 山东大学深圳研究院, 广东深圳 518057； 2. 大连理工大学化工学院, 智能材料化工前沿科学中心, 辽宁大连 116024）

摘要：光热治疗(PTT)通过光热剂(PTAs)吸收近红外光，将光激发产生的非辐射能量耗散到病灶部位，实现局部组织的热消融，为治疗肿瘤及细菌感染提供了新途径，但开发兼具高效光热转换与精准靶向功能的有机 PTAs 面临挑战。本文聚焦七甲川花菁(Cy7)染料分子工程优化，提出聚集态调控与功能基团协同强化策略，在中性 Cy7 骨架上引入三苯基磷阳离子(TPP^+)，构建新型阳离子衍生物 Cy7T-TPP。该衍生物具有三重优势：TPP^+赋予细菌膜锚定与线粒体靶向能力；诱导 H-聚集体增强分子间紧密堆叠，光热转换效率达到 51.65%；TPP^+屏蔽活性氧攻击，提升稳定性。实验证实 Cy7T-TPP 的抗肿瘤及抗菌效能优异，为高稳定、靶向性有机光热材料的开发提供了分子工程新范式。

关键词：光热治疗；线粒体靶向；细菌靶向；花菁染料；H-聚集体

中图分类号：O69 **文献标志码：**A

光热治疗(PTT)作为一种新型非侵入性治疗策略，其核心机制依赖于光热剂(PTAs)在近红外光激发下通过非辐射弛豫过程产生局部高温[1]。PTT 能够诱导细胞热凋亡或增强肿瘤组织对放化疗的敏感性，在癌症治疗中展现出独特优势[2]。近年来，细菌感染部位的 PTT 也颇受关注[3]。然而，肿瘤与细菌感染部位普遍存在的乏氧微环境严重制约了传统氧依赖性疗法的效果。研究表明[4-5]，癌细胞的高速增殖会打破氧供需平衡[6-7]，而细菌代谢与宿主免疫反应则进一步加剧感染部位的缺氧状态。PTT 因其不依赖氧分子的热消融特性，为克服上述微环境限制提供了创新解决方案[8-10]。

构建高性能 PTAs 需兼顾多重参数：近红外吸收能力、生物相容性、低暗毒性及高光热转换效率(PCE)。具有强近红外吸收、可调分子结构及高生物安全性的花菁类化合物，已成为构建高效 PTAs 的研究热点[11]。针对七甲川花菁(Cy7)染料的光热转换效率优化问题，目前采取的主要策略有[12-14]：(1)降低最高占据分子轨道(HOMO)与最低未占据分子轨道(LUMO)间的能隙(ΔE)，延长吸收波长，同时促进非辐射跃迁过程[13]；(2)调控分子聚集体形态(如 J/H 型聚集)以增强能量转换效率。其中，H-聚集体因其独特的面对面 π-π 堆叠构型，可通过抑制辐射衰减、促进非辐射能量转移的特性显著提升光热转换效率。例如，文献 [15] 设计了 D'-π-A 结构分子 BTH-Cy7-TCF，通过调控 π-π 相互作用形成 H-聚集纳米颗粒，实现光热转换效率 56.4% 及光声成像引导的协同治疗；Song 团队[16]利用 Cu^{2+}配位调控 Cy7 衍生物聚集形态，发现 H-聚集的 Cy-3COOH/Cu 复合物的光热转换效率较其他两个体系提升 3 倍；文献 [17] 开发的喹啉菁(QCy)凭借刚性平面结构，在低浓度下自组装为稳定 H-聚集体，使光热转换效率从 20.1% 跃升至 63.8%。这些研究证实，精确控制分子聚集态是突破 PTAs 性能瓶颈的关键。

收稿日期： 2025-05-16
基金项目： 广东省基础与应用基础研究基金 (2024A1515012493)；国家自然科学基金 (22378231)；山东大学基本科研业务费资助
作者简介： 魏斯文(2000—)，女，吉林长春人，硕士生，主要研究方向为有机染料的合成及其在光学治疗中的应用。E-mail: siwenwei828@163.com；侯浩然(1997—)，男，博士生，主要研究方向为光动力治疗乏氧肿瘤的光敏剂研究。E-mail: haoran_52@163.com。魏斯文和侯浩然对本文的贡献相同。
通信联系人： 宋锋玲，E-mail: songfl@sdu.edu.cn; songfl@dlut.edu.cn
引用本文： 魏斯文, 侯浩然, 宋锋玲. 三苯基磷修饰花菁 H-聚集体靶向增强光热治疗 [J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2026, 52(1): 1-15.
Citation: WEI Siwen, HOU Haoran, SONG Fengling. Triphenylphosphine Modified Cyanine H-Aggregates for Targeted Enhanced Photothermal Therapy[J]. Journal of East China University of Science and Technology, 2026, 52(1): 1-15.

基于上述研究背景,我们设计了一种新型阳离子花菁衍生物 Cy7T-TPP,通过在中性的七甲川花菁骨架上引入三苯基磷阳离子(TPP^+),实现了三重功能强化:(1)TPP^+的正电荷特性赋予其细菌膜锚定与线粒体靶向能力;(2)诱导形成紧密的 H-聚集体结构,通过增强分子间相互作用促进非辐射跃迁,使光热转换效率提升至 51.65%[18];(3)大位阻 TPP^+基团可屏蔽活性氧(ROS)对发色团的攻击,显著提高材料稳定性。实验表明,该分子工程策略通过协同优化聚集态与功能基团,为开发高效稳定的有机光热材料提供了新的设计范式。

1 实验部分

1.1 原料和试剂

三苯基磷(TPP),购自上海贤鼎生物科技有限公司,纯度≥ 98.0%。1-碘丙烷、1, 3-二碘丙烷、二甲基亚砜 (DMSO)、四氢呋喃 (THF)、三氯氧磷($POCl_3$)、二氯甲烷 (DCM)、甲醇(MeOH)、乙醇(EtOH)、乙腈(MeCN)、乙酸乙酯 (EtOAc)、*N*, *N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、甲苯、氯化钠、碳酸钾,均购自国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯。

柱色谱分离使用的填充硅胶为 200~300 目(78~48 μm),购自青岛裕民源硅胶试剂厂。实验室用水均为超纯水。

生物实验中胎牛血清(FBS)、RPMI-1640 培养基、3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)细胞增殖分析试剂盒、活/死细胞双染试剂盒、吖啶橙/碘化丙啶(AM/PI)试剂盒、胰蛋白酶、ROS 检测试剂盒 DCFH-DA(2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯)、JC-1 线粒体试剂盒,均购自凯基生物。商业化线粒体共定位染料 Mito-tracker Green 试剂盒、商业化溶酶体共定位染料 Lyso-tracker Green 试剂盒、商业化细胞核共定位染料 DAPI (4',6-联眯-2'-苯基吲哚) 试剂盒,均购自碧云天生物技术有限公司。三磷酸腺苷(ATP)含量测定试剂盒购自上海百生跃生物科技有限公司。活/死细菌活力试剂盒购自英潍捷基(上海)投资有限公司。结晶紫购自上海迈瑞尔生化科技有限公司。酵母粉、胰蛋白胨、琼脂粉,均购自赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 测试与表征

核磁共振波谱仪 (NMR):美国 Bruker 公司,Bruker Avance NEO (400 MHz) 型;原子力显微镜 (AFM):德国 JPK 公司,JPK NanoWizard Ⅳ型;场发射透射电子显微镜 (TEM):美国 FEI 公司,FEI TECNAI G2 F20 200KV 型;热成像仪:美国 Flir 公司,E-53 型;高分辨质谱仪 (HRMS):美国 Bruker 公司,Impact HD 型;动态光散射纳米粒径和 Zeta 电位分析仪(DLS):上海思百吉仪器系统有限公司,Malvern Nano ZS 型;紫外-可见分光光度计 (UV-Vis):日本 HITACH 公司,UH5300 型;荧光光谱仪 (FL):日本 HITACH 公司,F-470 型;激光扫描共聚焦显微镜 (CLSM):德国 Zeiss 公司,LSM90 型;酶标仪:美国赛默飞世尔科技公司,Multiskan FC 型。

1.3 实验步骤

1.3.1 化合物 **1** 的合成[19] 将 2-甲基苯并噻唑(3.00 g, 20.11 mmol)加入到 100 mL 的圆底烧瓶,然后加入 50 mL 甲苯作为反应溶剂,最后向反应体系中加入 1, 3-二碘丙烷(17.85 g, 60.32 mmol)。将反应混合物加热到 125 ℃,回流 24 h。反应结束后,待体系冷却到室温,抽滤,并用 3×10 mL 甲苯冲洗滤饼,以洗去未反应的原料;再用 3×10 mL 乙醚冲洗滤饼。将滤饼放入干燥箱中干燥,最终获得 6.27 g 淡黄色产物,即为化合物 **1**,产率 97.9%。过滤掉沉淀物并在空气中干燥。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 8.48~8.41 (m, 1H), 8.05~7.98 (m, 1H), 7.70 (td, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.54 (td, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 4.44 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.37 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.73~2.61 (m, 5H)。^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, δ): 156.55, 156.54, 156.53, 143.65, 143.64, 143.63, 143.58, 143.55, 130.99, 130.90, 130.83, 130.82, 129.14, 129.12, 129.06, 129.05, 129.03, 128.99, 128.97, 128.32, 128.31, 128.24, 128.23, 128.16, 128.15, 121.74, 121.73, 121.72, 121.67, 121.65, 121.64, 120.57, 120.49, 120.42, 47.89, 47.85, 47.83, 47.79, 32.55, 32.49, 32.43, 17.38, 3.54, 3.50, 3.48, 3.44。HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$, calcd for $C_{11}H_{13}INS^+$: 317.980 8; found: 317.981 3。

1.3.2 化合物 **2** 的合成[20] 将化合物 **1**(3.00 g, 9.43 mmol)与三苯基磷(3.71 g, 14.14 mmol)溶解在 130 mL 乙腈中,在氮气保护下搅拌回流 24 h。反应结束后,待反应液冷却至室温,过滤、收集固体沉淀。将所得固体溶解于二氯甲烷(50 mL),用去离子水(3×30 mL)进行萃取。合并水相,经减压旋蒸除去溶剂后得到淡黄色固体产物(2.48 g,产率 57.9%)。该粗产物经核磁检测确认纯度满足要求,直接用于后续反应。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 8.35 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 7.3, 1.6 Hz, 1H), 7.88~7.77 (m, 9H), 7.71 (ddd, J = 8.4, 7.6, 6.1 Hz, 6H), 7.63 (td, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.54 (td, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 4.49 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 4.19 (dt, J = 13.7, 7.1 Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.44 (p, J = 7.1 Hz, 2H)。^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, δ): 178.00, 140.58, 135.11, 135.08, 133.64, 133.54, 133.24,

133.05, 130.36, 130.24, 129.22, 129.12, 128.92, 128.73, 128.67, 127.96, 124.77, 118.23, 117.37, 116.38, 48.75, 48.52, 20.98, 20.96, 18.42, 17.89, 17.59。 ^{31}P-NMR (160 MHz, DMSO, δ): 24.23。HRMS (ESI) *m/z*: $[M+H]^+$, calcd for $C_{29}H_{28}NPS^{2+}$: 226.583 5; found: 226.584 4。

1.3.3 化合物 **3** 的合成[21] 将丙二腈(3.00 g, 45 mmol)加入到 100 mL 的圆底烧瓶中, 然后加入 20 mL 无水乙醇作为反应溶剂, 边搅拌边加入 3-羟基-3-甲基-2-丁酮(1.53 g, 15 mmol)和乙醇镁(1.94 g, 17 mmol)。将反应体系加热到 60 ℃, 反应 15 h。反应结束后, 将体系冷却至室温。产生的沉淀用布氏漏斗抽滤, 并用无水乙醇清洗滤饼, 收集滤液, 减压除去乙醇。随后, 加入二氯甲烷超声溶解, 产生的沉淀仍用布氏漏斗抽滤, 并用二氯甲烷清洗滤饼, 收集滤液, 减压除去二氯甲烷。重新加入少量二氯甲烷溶解, 用饱和食盐水萃取 3 次, 有机层用无水硫酸钠除水后, 减压除去二氯甲烷。残余物通过硅胶柱色谱法进一步纯化, 用二氯甲烷作为洗脱剂, 得到白色固体(1.36 g, 产率 44.7 %)。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 1.79 (s, 0H), 1.46 (s, 1H)。^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, δ): 183.04, 167.46, 115.07, 113.22, 112.25, 110.96, 94.31, 52.65, 25.62, 12.85。HRMS (ESI) *m/z*: $[M+H]^+$, calcd for $C_{11}H_9N_3O$: 200.077 9; found: 200.083 2。

1.3.4 化合物 **4** 的合成[22] 将 250 mL 双口烧瓶置于冰浴中, 依次加入无水 DMF(40.0 mL)和无水二氯甲烷(40.0 mL)。将三氯氧磷(37 mL, 377.0 mmol)和无水二氯甲烷(35 mL)混合均匀, 通过恒压滴液漏斗缓慢滴加到上述溶液中, 维持冰浴条件并磁力搅拌 30 min。随后向体系内逐滴加入环己酮(10.00 g, 101.90 mmol), 控制滴加速度使反应温度不超过 5 ℃。移除冰浴, 继续室温搅拌 1 h。随后将反应体系加热到 70 ℃, 回流反应 3 h。反应结束后, 待反应液冷却至室温, 将其缓慢倾入盛有碎冰的烧杯中, 立即用锡箔纸避光包裹容器, 转移至 4 ℃ 冰箱冷藏静置过夜。然后, 经布氏漏斗抽滤, 收集黄色固体, 冷冻干燥后得到化合物 **4** 的粗产品, 不用进一步纯化。

1.3.5 化合物 **5** 的合成 将化合物 **3**(310.00 mg, 1.56 mmol)和化合物 **4**(295.46 mg, 1.71 mmol)依次加入到 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 30 mL 无水乙醇。将反应体系加热到 90 ℃, 回流反应 15 h。通过薄层色谱(TLC, 展开剂为二氯甲烷和正己烷, 两者体积比为 5∶1)监控反应进程, 直至原料点完全消失。将反应液冷却至室温后, 减压除去溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱法进一步纯化, 用二氯甲烷作为洗脱剂, 得到紫红色固体 **5**(4.87 g, 产率 82.0%)。^{1}H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*, δ): 7.12 (t, *J* = 1.0 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 3.92 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H), 2.75 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.61 (td, *J* = 7.1, 1.0 Hz, 2H), 1.62 (p, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.50 (s, 5H), 1.32 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H)。^{13}C-NMR (100 MHz, Chloroform-*d*, δ): 183.81, 183.79, 159.93, 159.90, 159.87, 159.84, 151.87, 151.83, 151.78, 136.22, 135.78, 135.76, 135.74, 132.82, 132.78, 132.73, 131.61, 131.60, 131.56, 131.54, 114.44, 114.43, 113.12, 112.10, 110.84, 110.83, 104.03, 104.01, 103.97, 103.95, 92.20, 92.19, 92.17, 92.16, 67.80, 67.76, 67.72, 51.73, 27.98, 27.97, 27.94, 27.90, 27.89, 26.79, 26.78, 25.21, 25.17, 25.13, 25.08, 24.39, 24.35, 24.32, 24.28, 15.01, 14.97。

1.3.6 化合物 **6** 的合成[23] 合成方法同化合物 **1**。将 2-甲基苯并噻唑(3.00 g, 20.11 mmol)加入到 100 mL 的圆底烧瓶, 然后加入 50 mL 甲苯作为反应溶剂, 最后向反应体系中加入 1-碘丙烷(10.25 g, 60.32 mmol)。将反应混合物加热到 125 ℃, 回流 24 h。反应结束后, 等体系冷却到室温, 抽滤, 先用 3×10 mL 甲苯冲洗滤饼, 以洗去未反应的原料; 再用 3×10 mL 乙醚冲洗滤饼。将滤饼放入干燥箱中干燥, 最终获得3.73 g 白色产物, 即为化合物 **6**, 产率 96.4%, 过滤掉沉淀物并在空气中干燥。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 8.48~8.41 (m, 1H), 8.04~7.97 (m, 1H), 7.70 (td, *J* = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.54 (td, *J* = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 4.47 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.13 (qt, *J* = 8.0, 7.1 Hz, 2H), 1.15 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H)。^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, δ): 150.53, 150.51, 146.87, 146.85, 146.84, 146.79, 146.76, 133.43, 133.42, 133.36, 133.35, 133.34, 133.28, 133.27, 129.14, 129.13, 129.07, 129.05, 128.99, 128.97, 127.86, 127.85, 127.78, 127.77, 127.70, 127.69, 123.04, 123.03, 123.02, 122.96, 122.95, 122.94, 121.26, 121.19, 121.12, 121.11, 52.00, 51.96, 51.92, 24.12, 24.09, 24.06, 17.94, 13.75, 13.72, 13.71, 13.68。HRMS (ESI) *m/z*: $[M+H]^+$, calcd for $C_{11}H_{14}NS^+$: 192.084 1; found: 192.087 0。

1.3.7 化合物 Cy7T-TPP 的合成[15] 将化合物 **5**(200.00 mg, 0.524 mmol)和化合物 **2**(261.32 mg, 0.576 mmol)加入到 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 30 mL 无水乙醇并加入 2~3 滴吡啶。将反应体系加热到 90 ℃, 回流反应 15 h。通过薄层色谱(展开剂为二氯甲烷和甲醇, 两者体积比为 10∶1)监控反应进程, 直至原料点完全消失。将反应液冷却至室温后, 减压除去溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱法进一步纯化, 用二氯甲烷和甲醇的混合溶液作为洗脱剂, 得到深绿色固体 Cy7T-TPP(235 mg, 产率 57.1 %)。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 7.92 (dd, *J* = 7.4, 1.5 Hz, 1H), 7.87~7.78

(m, 6H), 7.73~7.61 (m, 11H), 7.53 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.41 (td, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.32 (td, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.65 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 4.11~4.00 (m, 4H), 2.78 (td, J = 7.0, 4.9 Hz, 4H), 1.97 (p, J = 7.1 Hz, 2H), 1.59 (p, J = 7.1 Hz, 2H), 1.49 (s, 5H)。^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, δ) 153.05, 148.51, 136.67, 136.47, 136.42, 136.37, 136.29, 133.95, 132.43, 132.34, 130.34, 129.97, 129.85, 128.60, 127.59, 126.40, 124.96, 123.28, 118.89, 117.24, 116.51, 116.35, 116.18, 115.11, 114.18, 108.15, 88.50, 61.53, 48.22, 48.03, 28.53, 28.34, 28.28, 27.82, 27.31, 25.68, 25.46。^{31}P-NMR (160 MHz, DMSO, δ) : 24.21。HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$, calcd for $C_{48}H_{41}ClN_4OPS^+$: 787.2422; found: 787.2424。

1.3.8 化合物 Cy7T-Pr 的合成 合成方法同 Cy7T-TPP。将化合物 **5**(200.00 mg, 0.524 mmol)和化合物 **6**(110.79 mg, 0.576 mmol)加入到 100 mL 圆底烧瓶中,加入 30 mL 无水乙醇并加入 2~3 滴吡啶。将反应体系加热到 90 ℃,回流反应 15 h。通过薄层色谱(展开剂二氯甲烷)监控反应进程,直至原料点完全消失。将反应液冷却至室温后,减压除去溶剂,残余物通过硅胶柱色谱法进一步纯化,用二氯甲烷作为洗脱剂,得到深绿色固体(103 mg,产率 37.3%)。^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6, δ): 7.92 (dd, J = 7.4, 1.6 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 7.4, 1.6 Hz, 1H), 7.38 (td, J = 7.4, 1.5 Hz, 1H), 7.30 (td, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.00 (dt, J = 8.9, 1.0 Hz, 1H), 6.62 (dt, J = 8.8, 1.0 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 6.33 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 4.07 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.83~2.74 (m, 4H), 1.74~1.54 (m, 4H), 1.49 (s, 5H), 0.99 (t, J = 8.0 Hz, 3H)。^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6, δ): 183.81, 183.79, 159.93, 159.90, 159.87, 159.84, 148.31, 148.25, 142.31, 142.30, 142.28, 142.22, 142.21, 137.66, 137.65, 137.62, 137.60, 137.59, 137.57, 137.54, 134.91, 134.86, 134.81, 134.05, 134.01, 134.00, 133.95, 131.84, 131.82, 131.81, 131.78, 131.77, 128.80, 127.61, 127.60, 127.54, 127.52, 127.46, 127.45, 126.66, 126.63, 126.59, 126.54, 126.19, 126.12, 126.11, 126.10, 126.04, 124.48, 124.47, 124.46, 124.40, 124.39, 124.38, 122.66, 122.60, 122.58, 122.57, 122.52, 114.57, 114.55, 113.60, 113.52, 113.45, 113.17, 112.17, 104.03, 104.01, 103.97, 103.95, 101.42, 101.38, 92.25, 92.24, 92.22, 92.21, 51.73, 46.37, 46.35, 46.33, 46.32, 46.30, 28.03, 28.02, 27.99, 27.95, 27.94, 27.27, 27.23, 27.19, 27.14, 26.70, 26.69, 24.02, 23.98, 23.95, 23.91, 21.45, 21.42, 21.39, 11.52, 11.49, 11.48, 11.45。HRMS (ESI) m/z: $[M+H]^+$, calcd for $C_{30}H_{27}ClN_4OS$: 526.1594; found: 527.1659。

Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 的合成路线如图 1 所示。^{1}H-NMR 谱图(附录图 1)证实 Cy7T-TPP 和 Cy7TPr 的成功合成。

1.4 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的制备

取 5.0 mg Cy7T-TPP 化合物溶解于 1 mL DMSO 中,经超声辅助分散后,将混合液迅速注入 10 mL

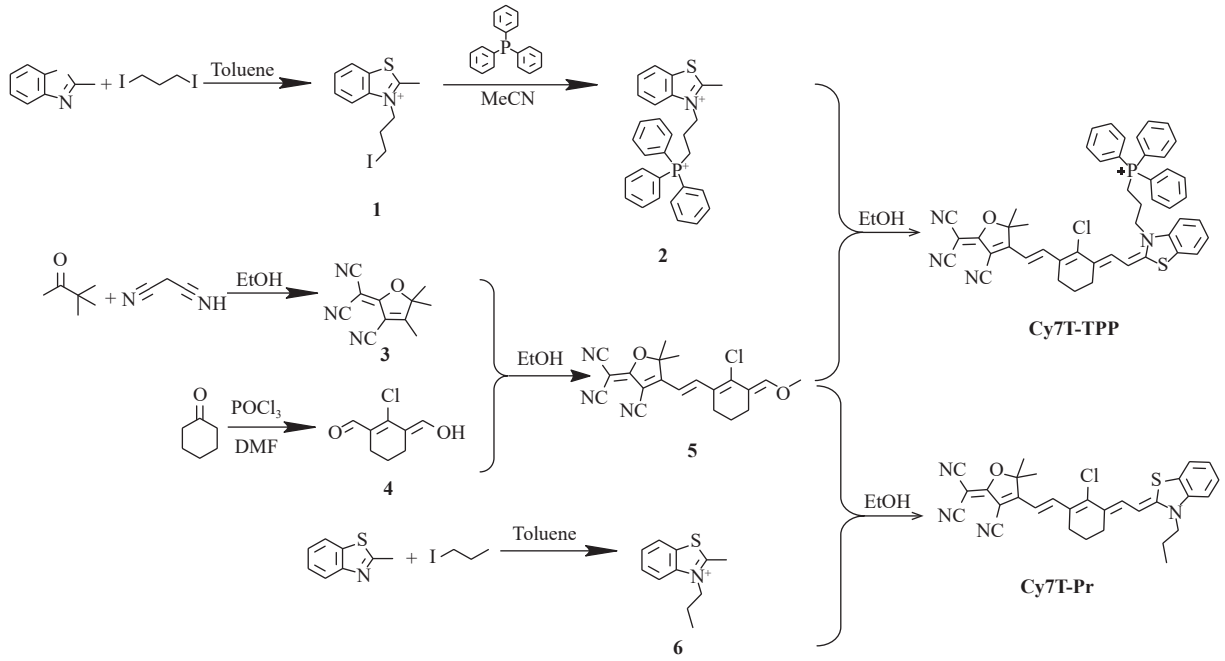

图 1 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 的合成路线

Fig. 1 Synthetic routes of Cy7T-TPP and Cy7T-Pr

超纯水体系中, 继续超声处理 10 min, 获得均匀分散的纳米粒子悬浊液。为去除有机溶剂及未包封分子, 将分散液转移至透析袋中, 在超纯水中透析 72 h, 期间每 12 h 更换 1 次超纯水以维持浓度梯度。透析完成后收集透析袋内液体, 分装后于 4 ℃ 避光保存备用[24]。

Cy7T-Pr 自组装纳米粒子参照上述方法制备。

1.5　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的结构表征

1.5.1　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子透射电子显微镜图像　将预先制备的 10 μmol/L Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子悬浊液均匀滴加至铜网表面, 在室温避光条件下自然干燥 24 h 以上以完成样品固定。随后采用透射电子显微镜对纳米粒子的组装形貌进行表征, 通过高分辨率成像模式获取样品的微观结构信息。

1.5.2　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子原子力显微镜图像　将预先制备的 10 μmol/L Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子悬浊液均匀滴加至新剥离的云母基底, 在室温避光条件下自然干燥 24 h 以上以使纳米粒子充分吸附。随后将基底置于洁净氮气流中缓慢吹扫 30 s 以去除残留溶剂, 获得平整干燥的样品表面。最后使用原子力显微镜对纳米粒子的组装形貌进行表征。

1.6　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的体外光热效果测试

1.6.1　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在水溶液中的升温实验　为测定 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在水中的升温性能, 配制好不同浓度的样品溶液, 使用波长为 808 nm 的激光器作为光源, 光功率密度(p)分别为 0.3、0.5 W/cm^2 和 1.0 W/cm^2, 照射样品并通过红外热像仪实时记录样品的温度。当温度达到平衡时, 关闭激光器, 在此过程中每隔 30 s 记录一次溶液温度。

1.6.2　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的光热转换效率计算　为测定 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在水中的光热转换效率, 先配制浓度为 20 μmol/L 的样品溶液, 然后使用波长为 808 nm 的激光器作为光源, 功率为 0.5 W/cm^2。通过红外热像仪实时记录样品的温度。当温度升至最高值并在 10 s 左右保持不变时, 认为温度达到平衡, 此时关闭激光器, 让溶液温度自然冷却到起始温度, 在此过程中每隔 30 s 记录 1 次溶液温度。光热转换效率(η)计算式如下:

$$\eta = \frac{hS\,(T_{\max} - T_{\mathrm{surr}}) - Q_{\mathrm{dis}}}{I(1 - 10^{-A_{808}})} \tag{1}$$

$$\tau = \frac{mC_{\mathrm{H_2O}}}{hS} \tag{2}$$

$$t = -\tau \ln\theta \tag{3}$$

$$\theta = \frac{T - T_{\mathrm{surr}}}{T_{\max} - T_{\mathrm{surr}}} \tag{4}$$

其中, h 为传热系数; S 为容器表面积; $T_{\max}$ 表示光照条件下样品温度达到平衡时的最高温度; T_{surr} 表示实验时的环境温度; Q_{dis} 为溶剂的散热量; I 为光源的激光功率(0.5 W/cm^2); A_{808} 为样品在 808 nm 处的吸光光度值; τ 为系统的热时间常数, 表示系统温度响应的快慢; t 为达到某一温度 T 所需要的时间; Q 为量纲为一温度参数, 表示当前温度与最大温升之间的比例; m 为水溶液的质量(0.5 g); $C_{\mathrm{H_2O}}$ 为水溶液的比热容($C_{\mathrm{H_2O}}$ =4.2 J/(g·℃))。

1.6.3　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的光热稳定性测试　为测试 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在水中的光热稳定性, 先配制浓度为 20 μmol/L 的样品溶液, 然后使用波长为 808 nm 的激光器作为光源, 功率 0.5 W/cm^2, 照射样品 7 min, 通过红外热像仪实时记录样品的温度。当温度达到平衡时, 关闭激光器, 让溶液温度自然冷却到起始温度。降温完成后, 重新打开激光器, 重复上述操作并循环 5 次, 在此过程中每隔 30 s 记录 1 次溶液温度。

1.7　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在溶液中的 ROS 物种表征

用 1,3-二苯基异苯并呋喃(DPBF)作为指示剂评估溶液中$^1O_2$ 的产生能力。在 2 mL 水溶液(含 φ=1% TX-100)中加入 50 μmol/L DPBF 溶液和 10 μmol/L 光敏剂。以 10 s 为时间间隔, 用激光器(808 nm, 0.5 W/cm^2)照射混合溶液, 并用紫外-可见分光光度计及时检测照射前后 DPBF 在 410 nm 处的吸光度变化。

1.8　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在 MCF-7 细胞中的共聚焦荧光成像

将 MCF-7 细胞接种于共聚焦培养皿中, 孵育 20 h, 弃培养基, 用磷酸盐缓冲液(PBS) 洗涤 2 次, 加入含 10 μmol/L 纳米粒子的培养基于 37 ℃ 下孵育 4 h。弃液后用 PBS 洗涤 3 次, 戊二醛固定 2 h, 再次洗涤后加入 DAPI 并在室温孵育 15 min, PBS 清洗 3 次。采用共聚焦显微镜成像: 405 nm 波长下激发, 采集 DAPI 蓝色荧光(420~500 nm); 635 nm 波长下激发, 采集纳米粒子红色荧光(660~790 nm)。

1.9　细胞内 ROS 物种的检测

利用 DCFH-DA 试剂盒检测 ROS 水平。MCF-7

细胞培养 20 h 后, 与 10 μmol/L 纳米粒子孵育 4 h, 用 PBS 洗去游离粒子, 加入含 10 μmol/L DCFH-DA 的培养液孵育 30 min, 洗涤后用 808 nm 激光(0.5 W/cm^2)照射 7 min, 488 nm 激发, 采集绿色通道荧光信号(500~530 nm)。

1.10 使用 MTT 法分析细胞活力

将 MCF-7 细胞以 1×10^5 cells/mL 的密度接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后, 不同浓度纳米粒子共孵育 4 h, 用 808 nm 激光照射 7 min, 培养箱继续孵育 12 h(对照组不照射)。加入 20 μL MTT 溶液(5 mg/mL)孵育 4 h, DMSO 溶解紫色沉淀后, 用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度。

1.11 细胞中线粒体共定位和损伤实验

1.11.1 *线粒体共定位实验* 将 MCF-7 细胞分别与 10 μmol/L 的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子共孵育 4 h。然后取出培养基, 用 PBS 洗涤细胞 3 次。加入 Mito-tracker Green, 再孵育细胞 15 min, 最后用 PBS 洗涤 3 次。488 nm 波长下激发, 收集 Mito-tracker Green 荧光共聚焦图像(500~525 nm)。635 nm 波长下激发, 收集光敏剂荧光共聚焦图像(660~790 nm, 红色通道)。

1.11.2 *线粒体损伤实验* 将 MCF-7 细胞分别与 10 μmol/L 的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子共孵育 4 h。然后取出培养基, 用 PBS 洗涤细胞 3 次。最后加入 JC-1 线粒体膜电位检测探针, 在细胞中再孵育 15 min。用 PBS 洗涤细胞 3 次。用 808 nm (0.5 W/cm^2)激光照射 7 min, 然后使用 JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒中推荐的程序检测线粒体膜电位的变化。对照组除不添加任何光敏剂外, 其余操作与实验组相同。在 488 nm 波长下激发, 收集 JC-1 单体(绿色通道)的荧光共聚焦图像(500~525 nm)。在 488 nm 波长下激发, 收集 JC-1 聚集体(红色通道)的荧光共聚焦图像(590~680 nm)。

1.12 细胞内 ATP 含量的检测

为了检测细胞内 ATP 水平, 将 MCF-7 细胞以 5×10^6 cells/mL 的密度接种到 6 孔板中, 在 37 ℃ 和 φ=5% CO_2 下培养 24 h, 然后分别与 10 μmol/L 的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子共孵育 4 h。最后, 用 808 nm(0.5 W/cm^2)激光照射 7 min, 并使用 ATP 发光检测试剂盒中的推荐程序检测细胞内 ATP 水平。对照组除不添加任何光敏剂外, 其余操作与实验组相同。每组有 3 个平行样本。

1.13 细胞中 AM/PI 染色的共聚焦荧光成像

将 MCF-7 细胞分别与 10 μmol/L 的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子共孵育 4 h, 然后使用 808 nm(0.5 W/cm^2)激光照射 7 min。使用 Calcein-AM/PI 双染色试剂盒(碧云天)进行共染色。然后使用共聚焦显微镜检测 MCF-7 细胞内的荧光成像。黑暗组除不暴露在激光下外, 其余操作与实验组相同。最后在 488 nm 波长下激发, 收集 AM(绿色通道, 500~550 nm)和 PI(红色通道, 600~640 nm)的荧光共聚焦图像。

1.14 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子与金黄色葡萄球菌的共聚焦荧光成像

将金黄色葡萄球菌(*S. aureus*, ATCC 25923)菌液用无菌 PBS 稀释至 10^7 CFU/mL, 用移液枪将 90 μL 细菌溶液转移到 1.5 mL EP(Eppendorf)管中, 然后分别加入 10 μmol/L 的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子溶液, 随后在 37 ℃、200 r/min 的细菌恒温振荡培养箱中孵育 30 min, 使光敏剂充分与细菌接触。然后离心, 弃去上清液, 用无菌 PBS 洗涤, 重复 2~3 次。加入 1.5 mL 无菌 PBS 重悬菌液, 并取 10 μL 菌液滴在载玻片上, 并用盖玻片盖住。使用共聚焦显微镜观察细菌染色。635 nm 波长下激发, 收集光敏剂荧光共聚焦图像(红色通道, 660~790 nm)。

1.15 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的体外抗菌活性

1.15.1 *琼脂平板培养计数法* 使用 *S. aureus* 通过平板涂布法评估抗菌活性。使用 Luria 肉汤(LB)培养基培养 *S. aureus*。将菌株在 LB 培养基中培养 24 h, 用无菌 PBS(0.01 mol/L, pH 7.4)将细菌培养物稀释至 10^6 CFU/mL, 然后将 1 mL 稀释的细菌悬浮液分别与不同浓度的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子混合。将上述细菌悬浮液在 37 ℃、200 r/min 的细菌恒温振荡培养箱中孵育 30 min。随后, 用 808 nm、0.5 W/cm^2 的激光照射 7 min, 将获得的细菌溶液用无菌 PBS 稀释 10 倍。取 100 μL 稀释后的细菌溶液, 使用涂布棒使其均匀地分布在固体琼脂平板上。在 37 ℃ 下孵育过夜, 使用 Image J 计算菌落数。对照组除不施加光照外, 其余操作均与实验组相同; 而空白组除不添加任何光敏剂外, 其余操作均与实验组相同。使用以下公式计算抑制率(IR):

$$\mathrm{IR}=\frac{c_0-c}{c_0}\times100\% \tag{5}$$

其中, c 为实验组或对照组的细菌菌落计数; c_0 为空白组菌落计数。

1.15.2 *成熟生物膜破坏和去除实验* 将 *S. aureus* (10^9 CFU/mL)用含有 10 g/L 葡萄糖的 LB 培养基稀释至 10^7 CFU/mL。将 200 μL 上述细菌悬液加入到 96 孔板中, 于 37 ℃ 恒温培养箱中培养 48 h, 以形成

成熟的生物膜。当生物膜发育成熟时, 分别加入 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子, 再培养 30 min。然后用 808 nm、0.5 W/cm^2 的激光照射 10 min, 随后放到 37 ℃ 培养箱中继续静置孵育 8 h。培养结束后, 弃去上清液, 并用无菌 PBS 小心冲洗 2~3 次, 以清除被破坏的生物膜。在剩余生物膜中加入 200 μL 无水甲醇, 孵育 15 min 后抽吸干净, 以固定剩余生物膜, 并在自然条件下晾干。加入 100 μL、0.1%(100 mL 水中加入 0.1 g 结晶紫)的结晶紫溶液, 对生物膜室温染色 15 min, 用无菌 PBS 仔细清洗以去除剩余结晶紫溶液, 并用相机捕捉和记录染色后的生物膜。随后, 用 33%(质量分数)冰醋酸溶解染色的生物膜, 并使用紫外-可见光谱仪测定 595 nm 处的吸光度, 以定量分析对生物膜的损伤。通过将其与阳性对照组的生物膜体积(用 H_2O 溶解)进行比较来计算相对生物膜剩余量(R), 公式如下式所示:

$$R = \frac{A_s - A_b}{A_c - A_b} \times 100\% \tag{6}$$

其中, A_s 为实验组的吸光度, A_b 为阳性对照的吸光度, A_c 为阴性对照的吸光度。

1.16　细菌的扫描电镜表征

使用扫描电镜观察分别用 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子处理后的细菌形态。抗菌实验操作同 1.15 节。将细菌悬液以 4000 r/min 的转速离心 5 min 并收集细菌, 用无菌 PBS 洗涤 2~3 次, 弃去上清液, 将收集到的细菌立即用 2.5%(质量分数)戊二醛溶液固定 30 min, 然后转移到 4 ℃ 的冰箱中过夜。使用 25%、50%、70%、80%、90%、100%(体积分数)的分级乙醇溶液连续处理使细菌脱水, 每次处理 10 min。最后, 将 2 μL 细菌溶液逐滴沉积在干净的硅片上, 离子溅射喷金后上机观察细菌形态。

1.17　细菌的 Zeta 电位检测

将 *S. aureus* 的细菌悬液(1×10^6 CFU/mL)分别与 10 μmol/L 的 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在 37 ℃ 恒温培养箱中静置孵育 30 min, 随后以 4000 r/min 离心 5 min, 然后将得到的样品用无菌去离子水洗涤 2~3 次, 最后在去离子水中重新悬浮, 进行 Zeta 电位测定。没有经过 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子处理的 *S. aureus* 也在相同条件下作为对照组进行 Zeta 电位测定。

1.18　活/死细菌 AM/PI 染色共聚焦荧光成像

使用 Calcein-AM/PI 双染色试剂盒(碧云天)进行活/死细菌测定, 以评估不同光敏剂处理后 *S. aureus* 的活性。

1.18.1　游离细菌的 AM/PI 共聚焦荧光成像　分别用 PBS、Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子处理含有 10^7 CFU/mL 的细菌悬浮液, 共同在 37 ℃ 恒温培养箱中静置孵育 30 min 后, 将激光治疗组暴露于 808 nm 的激光(光功率密度 0.5 W/cm^2)下照射 7 min。随后温育 2 h, 4000 r/min 转速下离心 5 min 收集细菌, 并在黑暗条件下与 PI 和 Calcein-AM 荧光染料共染色 30 min。然后, 将细菌溶液用无菌 PBS 洗涤 2~3 次以去除过量的染料。最后, 在 488 nm 波长下激发, 收集 AM(绿色通道, 500~550 nm)和 PI(红色通道, 600~640 nm)的荧光共聚焦图像。

1.18.2　成熟生物膜的 AM/PI 共聚焦荧光成像　将 *S. aureus*(10^9 CFU/mL)在含有 1%(10 g/L)葡萄糖的 LB 培养基中稀释至 10^7 CFU/mL。在共聚焦培养皿中加入上述菌液 2 mL, 放入 37 ℃ 恒温培养箱中静置培养 48 h, 使其形成成熟的生物膜。培养结束, 去除上清液, 分别加入 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子, 再培养 30 min。然后, 用 808 nm、0.5 W/cm^2 的激光照射 10 min, 随后放入 37 ℃ 培养箱中继续静置孵育 2 h。培养结束后, 弃去上清液, 并用无菌 PBS 小心冲洗 2~3 次, 以清除被破坏的生物膜。随后, 在黑暗条件下与 Calcein-AM/PI 荧光染料共染色 30 min。染色结束后, 用无菌 PBS 小心地洗涤 2~3 次以去除过量的染料。最后, 在 488 nm 波长下激发, 收集 AM(绿色通道, 500~550 nm)和 PI(红色通道, 600~640 nm)的荧光共聚焦图像。

1.19　4T1 荷瘤小鼠的体内抗肿瘤实验

本研究中的所有动物实验均已获得山东大学动物实验伦理委员会的批准(批准号 SYXK 2019-0005)。6 周龄雌性 BALB/c 小鼠购自济南鹏岳实验动物有限公司。

为了评估 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子在体内抗肿瘤的疗效, 将培养好的小鼠乳腺癌 4T1 细胞珠用悬浮培养基进行悬浮, 将所得悬浮液(5.0×10^7 cells/mL)皮下接种到 BALB/c 鼠中。当肿瘤体积达到约 100 mm^3 时, 将小鼠分为 5 组: (1) 对照组 (PBS); (2) Cy7T-TPP; (3) Cy7T-Pr; (4) Cy7T-TPP+ Laser; (5) Cy7T-Pr+ Laser。对于光照组, 原位注射 4 h 后, 用 808 nm 的激光照射小鼠的肿瘤区域 10 min。对照组除了不使用光敏剂外, 其余操作均与实验组相同。黑暗组除不施加光照外, 其余操作均与实验组相同。随后, 每 2 天记录 1 次小鼠体重和肿瘤体积。小鼠体重通过天平称量, 肿瘤体积(V)使用式(7)计算。

$$V = \frac{a \times b^2}{2} \tag{7}$$

其中, a 为肿瘤最长直径, b 为肿瘤最短直径, a 和 b 用游标卡尺测量。

2 结果与讨论

2.1 Cy7T-TPP和Cy7T-Pr自组装纳米粒子的结构表征

首先，分别将10 μmol/L的Cy7T-TPP和Cy7T-Pr自组装纳米粒子的水溶液滴在铜网上，使其在避光条件下自然挥发，然后用TEM和AFM观测其形貌。如图2所示，Cy7T-TPP和Cy7T-Pr自组装纳米粒子均呈现碟状，其直径约为50~60 nm，而厚度则分别为18.73 nm和5.02 nm。随后，使用DLS方法检测其水合粒子的粒径(d)分别为71.62 nm和74.18 nm，多分散指数(PDI)分别为0.352和0.148。粒径越小，比表面积越大，越能够与物质充分接触。图2结果说明Cy7T-TPP和Cy7T-Pr自组装纳米粒子可以更容易地被细胞摄取[25]。

按照1.17节所述方法检测Cy7T-TPP和Cy7T-Pr自组装纳米粒子在水中的Zeta电位，分别为(34.13±1.27)mV和(0.76±2.57)mV。Cy7T-Pr自组装纳米粒子在水中近乎电中性，而Cy7T-TPP自组装纳米粒子带有比较强的表面电荷，在生物水性溶液中不容易发生沉降，因此，Cy7T-TPP具有良好的生物学应用潜力。

2.2 Cy7T-TPP和Cy7T-Pr在不同溶剂中的光谱表征

Cy7T-TPP和Cy7T-Pr在不同溶剂中的紫外吸收光谱见附录图2。在有机溶剂(如DMSO)中，Cy7T-TPP和Cy7T-Pr以单体形式存在，最大吸收峰分别位于860 nm和854 nm左右。在PBS和水中，二者均发生自组装，导致吸收蓝移、峰宽增加及吸光度下降[22]。此外，无论是单体还是聚集态，Cy7T-TPP和Cy7T-Pr的吸光度与浓度均呈线性关系。根据朗勃-比尔定律计算可知[26]，Cy7T-TPP在DMSO和水中的摩尔吸光系数(分别为31.9、15.0 L/(mol·cm))均高于Cy7T-Pr的对应值(分别为17.9、9.0 L/(mol·cm)[27])，表明引入TPP^+增强了分子的捕光能力[28]。

2.3 Cy7T-TPP和Cy7T-Pr自组装纳米粒子的光热性能

在实现Cy7T-TPP纳米粒子吸收光谱蓝移及表面正电性修饰后，系统对比了Cy7T-TPP与Cy7T-Pr自组装纳米粒子的光热转换性能及稳定性。浓度与功率梯度实验结果(附录图3)表明，Cy7T-TPP的光热转换效率显著优于Cy7T-Pr，且二者温升幅度均与激光功率呈线性关系，为精准光热治疗提供了关键调控依据。

图3所示为Cy7T-TPP和Cy7T-Pr的光热循环稳定性测试结果。在5次连续升温/冷却循环(808 nm激光，0.5 W/cm^2，20 μmol/L)中，Cy7T-TPP体系的最高温度稳定在(37.66±0.21)℃，无显著衰减；而Cy7T-Pr体系从第3次循环开始出现明显的热衰减，最高

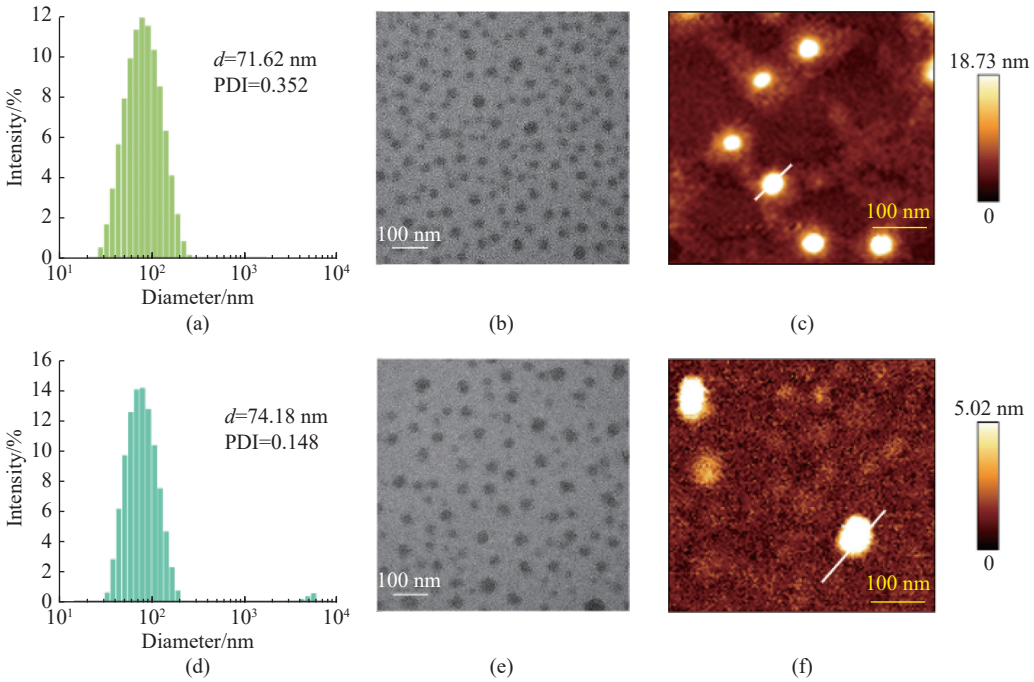

图2 Cy7T-TPP (a)和Cy7T-Pr (d)在水中的流体动力学粒径分布；Cy7T-TPP (b)和Cy7T-Pr (e)自组装纳米粒子的TEM图像；Cy7T-TPP (c)和Cy7T-Pr (f)自组装纳米粒子的AFM图像

Fig. 2 Fluid dynamic particle size distribution of Cy7T-TPP (a) and Cy7T-Pr (d) in water; TEM images of Cy7T-TPP (b) and Cy7T-Pr (e) self-assembled nanoparticles; AFM images of Cy7T-TPP (c) and Cy7T-Pr (f) self-assembled nanoparticles

温度由初始 34.6 ℃降至第 5 次的 31.8 ℃, 表明 Cy7T-TPP 的热稳定性显著更优, 这归因于 TPP^+修饰对分子组装结构的优化。

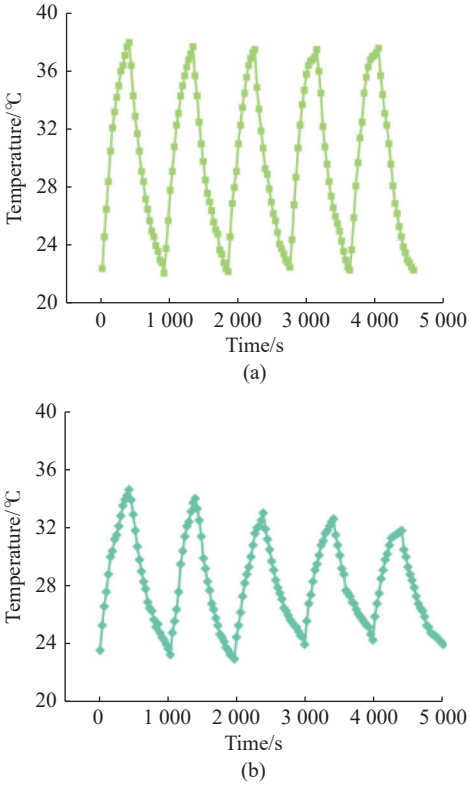

图 3　Cy7T-TPP (a) 和 Cy7T-Pr (b) 在水中的升温/冷却循环曲线 (808 nm, 0.5 W/cm^2, 20 μmol/L)

Fig. 3　Cy7T-TPP (a) and Cy7T-Pr (b) heating/cooling cycle curves in water (808 nm, 0.5 W/cm^2, 20 μmol/L)

原位光谱监测表明(附录图 4), Cy7T-TPP 在近红外激光持续照射下光谱稳定, 而 Cy7T-Pr 则发生吸收衰减与红移, 验证了三苯基磷阳离子修饰显著提升了花菁染料的光稳定性。

定量计算 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 在水中的光热转换效率, 结果如图 4 所示, 可知在 808 nm 激光(0.5 W/cm^2)下辐照 7 min 后, Cy7T-TPP 的 η 值为 51.65%, 高于 Cy7T-Pr 体系的 47.61%。该结果进一步证实, TPP^+的引入通过增强分子间堆叠、抑制光漂白及优化组装结构, 显著提升了材料的光热转换效率与稳定性。上述实验从性能、稳定性及效率多维度验证了 Cy7T-TPP 的优势, 为其在肿瘤 PTT 中的精准应用提供了实验依据。

2.4　Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的 ROS 检测和体外抗肿瘤能力

以 DPBF 为 ROS 探针, 检测发现(附录图 5), 在 808 nm 激光(0.5 W/cm^2)照射下, Cy7T-TPP 产生的 ROS 显著少于 Cy7T-Pr 产生的 ROS, 这归因于其增强的分子间堆积作用有效抑制了 ROS 对发色团的攻击, 从而提升了光稳定性。

以 MCF-7 细胞为模型, 研究 Cy7T-TPP 的抗肿瘤性能, 结果表明: 两种纳米粒子均可通过内吞作用被细胞有效摄取 (附录图 6), 光照下均能产生 ROS(附录图 7)。MTT 法检测结果显示, 808 nm 激光(0.5 W/cm^2, 7 min)照射下, Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 均具有浓度依赖性光毒性, Cy7T-TPP 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 (2.38±0.21) μmol/L, 显著低于 Cy7T-Pr 的对应值 (12.17±1.05)μmol/L (图 5(a), 5(b)), 说明 Cy7T-TPP 有更好的光动力治疗效率。通过对非洲绿猴肾成纤维细胞 COS-7 和人乳腺癌细胞 MCF-7 的 MTT 测试, 发现这两个自组装纳米粒子的暗毒性可忽略 (附录图 8), 生物相容性良好 (附录图 9)。AM/PI 染色显示, Cy7T-TPP 经光照后可有效杀死肿瘤细胞 (图 5(c))。红外热成像监测 (图 5(d)) 发现, 10 μmol/L 纳米粒子与 MCF-7 细胞共孵育并经相同条件激光辐照后, Cy7T-TPP 处理组细胞温度升至 47.5 ℃, 显著高于

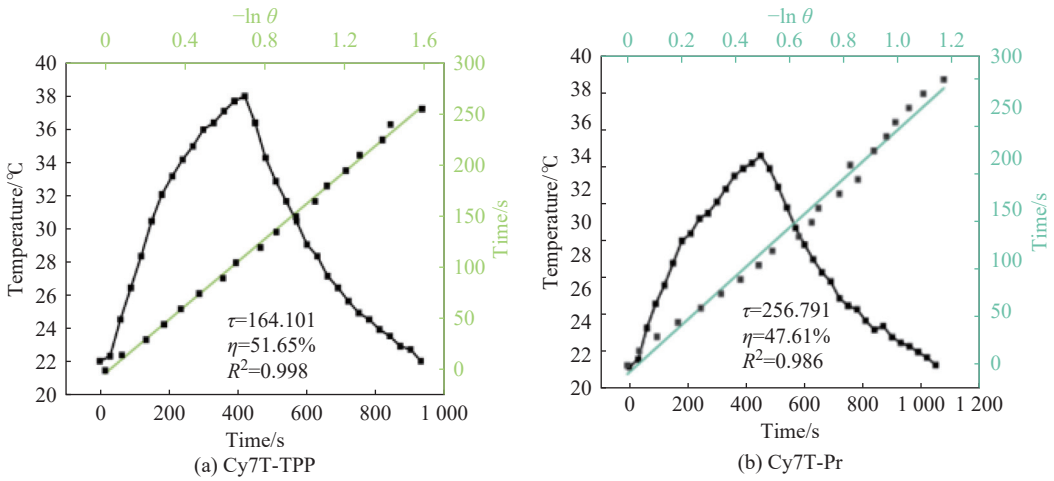

图 4　Cy7T-TPP (a) 和 Cy7T-Pr (b) 在水中的光热转换效率 (808 nm, 0.5 W/cm^2, 20 μmol/L)

Fig. 4　Calculation of photothermal conversion efficiency of Cy7T-TPP (a) and Cy7T-Pr (b) in water (808 nm, 0.5 W/cm^2, 20 μmol/L)

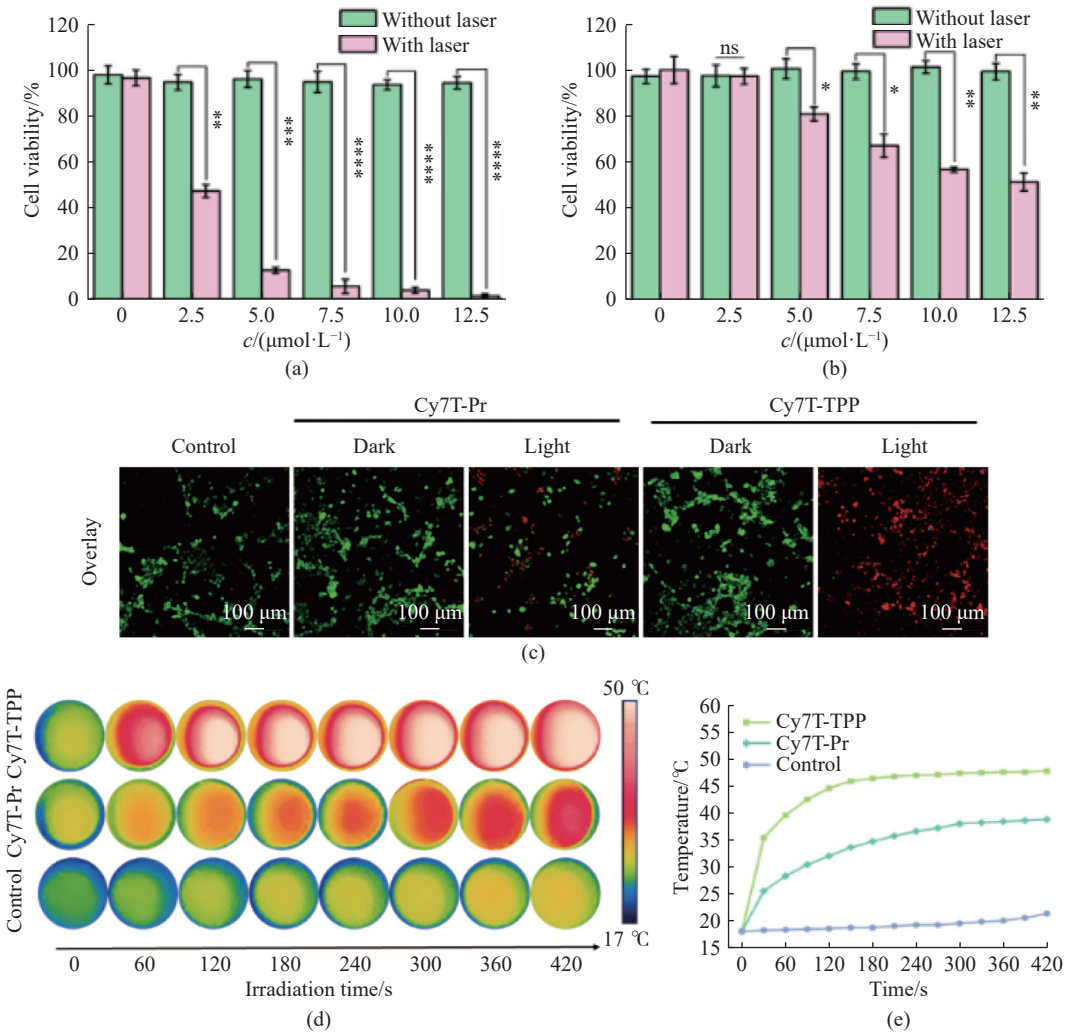

图 5 Cy7T-TPP (a) 与 Cy7T-Pr (b) 的体外 PTT; 活/死细胞双染色成像 (c); 细胞光热图像 (d) 及升温曲线 (e) (808 nm, 0.5 W/cm²)。使用单因素方差分析检验统计显著性(ns: P>0.05, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.000 1)

Fig. 5 *In vitro* PTT of Cy7T-TPP (a) and Cy7T-Pr (b); Double staining imaging of live/dead cells (c); Cell photothermal image (d) and heating curve (e) (808 nm, 0.5 W/cm²). Use one-way ANOVA to test for statistical significance(ns: P > 0.05, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, ****P < 0.000 1)

Cy7T-Pr 组的 39.3 ℃, 呈现胞内温升放大效应, 推测与阳离子介导的 EPR 效应导致纳米粒子在胞内特异性富集有关。

亚细胞器定位分析显示 (图 6(a), 6(b)), Cy7T-TPP 与线粒体探针共定位系数达 0.98, 特异性靶向线粒体, 而 Cy7T-Pr 主要富集于溶酶体(共定位系数 0.91)。JC-1 探针监测表明 (图 6(c) 和附录图 10), Cy7T-TPP 处理组细胞线粒体膜电位降低, 荧光从红色转为绿色, ATP 水平显著低于 Cy7T-Pr 组 (图 6(d))。上述结果表明, Cy7T-TPP 通过 TPP^+的靶向作用, 精准定位于线粒体, 利用光热效应与氧化损伤破坏线粒体功能, 从而发挥卓越的抗肿瘤功效, 为线粒体靶向 PTT 奠定了基础。

2.5 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的体内抗肿瘤能力

基于 Cy7T-TPP 优异的体外光热性能与低暗毒性, 本研究进一步在 4T1 荷瘤小鼠模型中评估其体内治疗效果。将 4T1 细胞接种于 BALB/c 小鼠右后肢外侧构建皮下移植瘤模型(肿瘤体积约为 100 mm^3), 随机分为 5 组(n=3): (1)生理盐水对照组; (2)Cy7T-Pr 组; (3) Cy7T-TPP 组; (4) Cy7T-Pr+Laser 组; (5) Cy7T-TPP+Laser 组。瘤内注射自组装纳米粒子 4 h 后, 采用 808 nm 激光(0.5 W/cm²)局部照射肿瘤区域(给药方案详见图 7(a))。

治疗期间各组小鼠体重均呈稳定增长趋势, 如(图 7(b))所示, 表明材料在实验剂量下具有良好生物相容性。通过每 48 h 监测肿瘤体积发现(图 7(c)), Cy7T-TPP+Laser 组抑瘤效果显著: 第 14 d 解剖显示该组肿瘤质量较对照组显著降低(图 7(d)和 7(e))。使用苏木精和伊红(H&E)染色对解剖的肿瘤进行组织病理学分析, 结果显示 Cy7T-TPP+ Laser 组出现广泛坏死, 其他组的肿瘤组织没有明显损伤(图 7(f)),

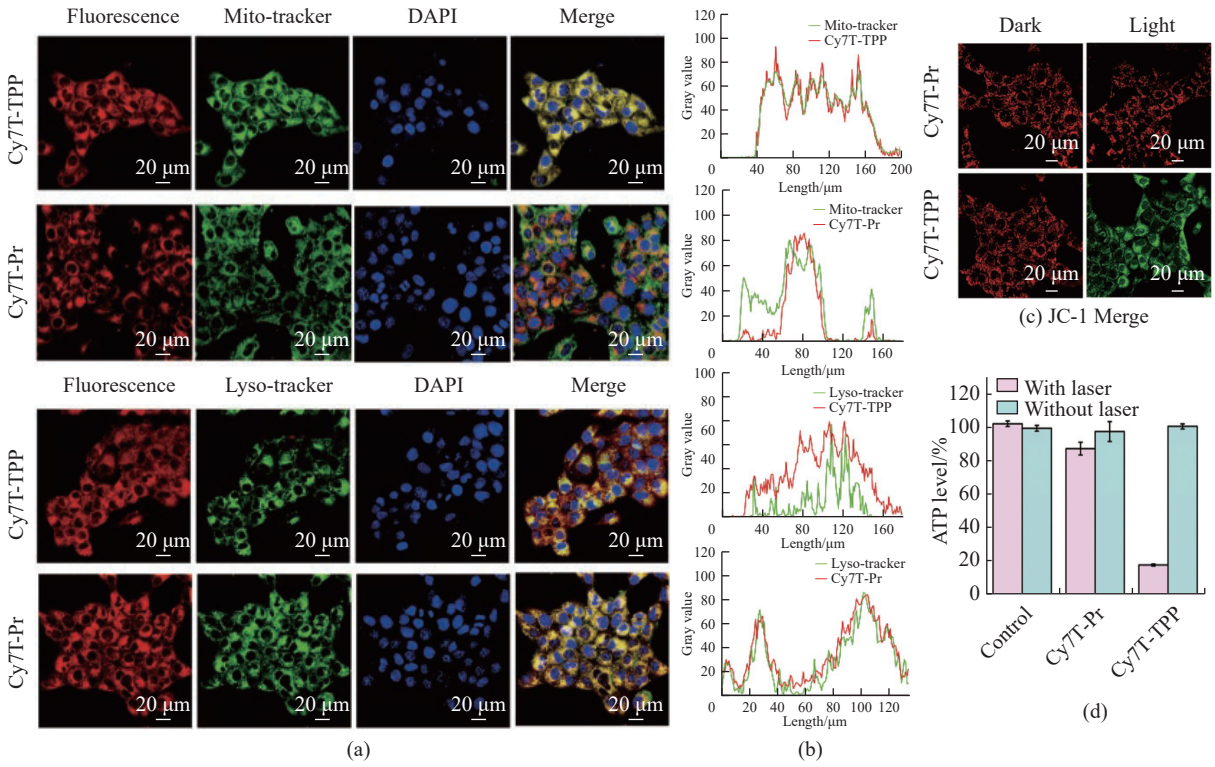

图 6　(a) 亚细胞共定位成像; (b) 线粒体膜电位检测; JC-1 探针 (c) 和 ATP 水平 (d) 检测

Fig. 6　(a) Subcellular co-localization imaging; (b) Mitochondrial membrane potential detection; JC-1 merge (c) and ATP level (d) detection

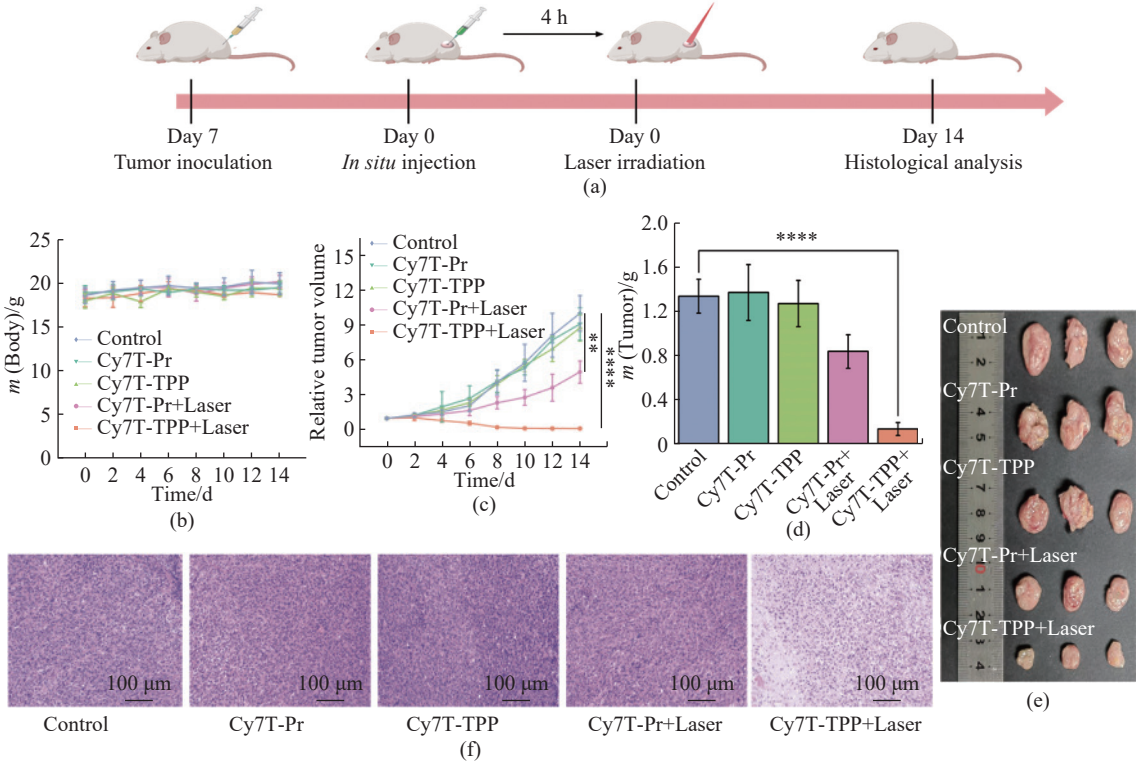

图 7　(a) 小鼠肿瘤 PTT 示意图 (光照下 808 nm, 0.5 W/cm^2, 10 min); 不同处理组的小鼠体重 (b) 和肿瘤体积 (c) 随时间的变化; (d) 不同处理组治疗后的肿瘤质量; (e) 从不同组中分离的肿瘤照片; (f) 肿瘤组织切片的 H&E 染色(每组设置为 3 只老鼠)。使用单因素方差分析来检验统计显著性(*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.000 1)

Fig. 7　(a) Schematic diagram of PTT for mouse tumors (808 nm, 0.5 W/cm^2, 10 min); (b) Changes in body mass (b) and tumor volume (c) of different treatment groups changes over time; (d) Tumor mass after treatment in different treatment groups; (e) Tumor photos isolated from different groups; (f) H&E staining of tumor tissue sections (3 mice per group). Use one-way ANOVA to test for statistical significance (*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, ****P < 0.000 1)

而小鼠主要器官 H&E 染色结果无异常(附录图 11),小鼠治疗 14 d后的血清生化分析数据(附录图 12)和血液学分析参数(附录图 13)在正常水平,进一步验证了这些自组装纳米粒子的生物安全性。

2.6 Cy7T-TPP 和 Cy7T-Pr 自组装纳米粒子的体外抗菌能力

2.6.1 细菌靶向与膜结合特性 激光共聚焦显微镜成像结果显示,Cy7T-TPP 与菌体 *S. aureus* 共孵育 30 min 后显著富集于细菌表面,而 Cy7T-Pr 仅呈现微弱的荧光信号 (图 8(a))。这一差异源于 Cy7T-TPP 分子中 TPP^+ 的正电特性,其通过静电作用增强了与带负电细菌膜(初始 Zeta 电位 (−28.8±1.18) mV)的结合 (图 8(d))。Zeta 电位测试结果进一步证实,Cy7T-TPP 处理组菌体表面电位正向偏移至 (+11.65±1.87) mV,而 Cy7T-Pr 处理组菌体表面电位仅为 (−25.03±0.46) mV,表明 TPP^+ 的修饰显著提升了光敏剂与细菌的界面相互作用。在光照条件下,两种纳米粒子均能在细菌表面产生 ROS (图 8(b))。

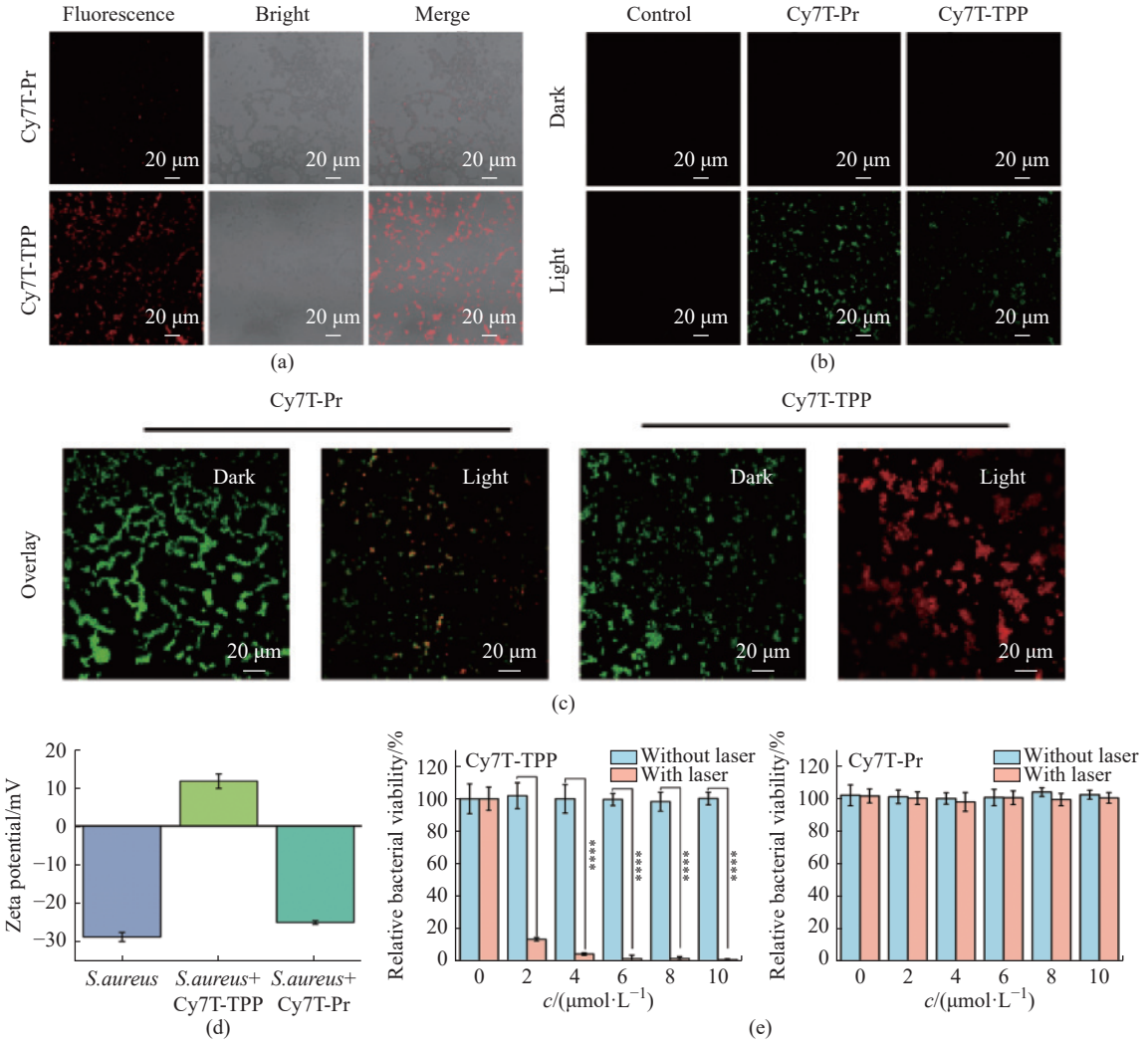

图 8 (a) 共聚焦图像显示 Cy7T-TPP、Cy7T-Pr 与 *S. aureus* 共孵育 0.5 h 后的富集情况;(b) 光照/非光照下细菌 ROS 荧光成像;(c) 活/死细菌双染色;(d) Cy7T-TPP、Cy7T-Pr 与 *S. aureus* 共孵育 0.5 h 后 Zeta 电位变化;(e)Cy7T-TPP、Cy7T-Pr 抗菌活性。使用单因素方差分析检验统计显著性(ns: P>0.05, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.000 1)

Fig. 8 (a) Confocal images display the enrichment of Cy7T-TPP, Cy7T-Pr, and *S.aureus* after co-incubation for 0.5 h; (b) Bacterial ROS fluorescence imaging under light/non light conditions; (c) Bacterial live/dead dual staining; (d) Changes in Zeta potential after co-incubation of Cy7T-TPP, Cy7T-Pr and *S.aureus* for 0.5 h; (e) Antibacterial activity of Cy7T-TPP, Cy7T-Pr. Use one-way ANOVA to test for statistical significance (ns: P>0.05, *P< 0.05, **P< 0.01, ***P< 0.001, ****P<0.000 1)

2.6.2 光热抗菌活性 平板菌落计数显示 (图 9(a)),在非光照条件和 0~10 μmol/L 下,二者均无明显暗毒性。经 808 nm 激光(0.5 W/cm², 7 min)照射后,Cy7T-TPP 表现出显著优于 Cy7T-Pr 的杀菌效率:10 μmol/L 处理组对 *S. aureus* 的抑制率达 99%,IC_{50} 为 (0.71±0.16) μmol/L,远低于 Cy7T-Pr 的对应值 (图 8(e))。扫描电镜(SEM)观测 (图 9(b)) 发现,Cy7T-TPP 光照组菌体表面出现大面积皱缩与膜破裂,而 Cy7T-Pr 处理

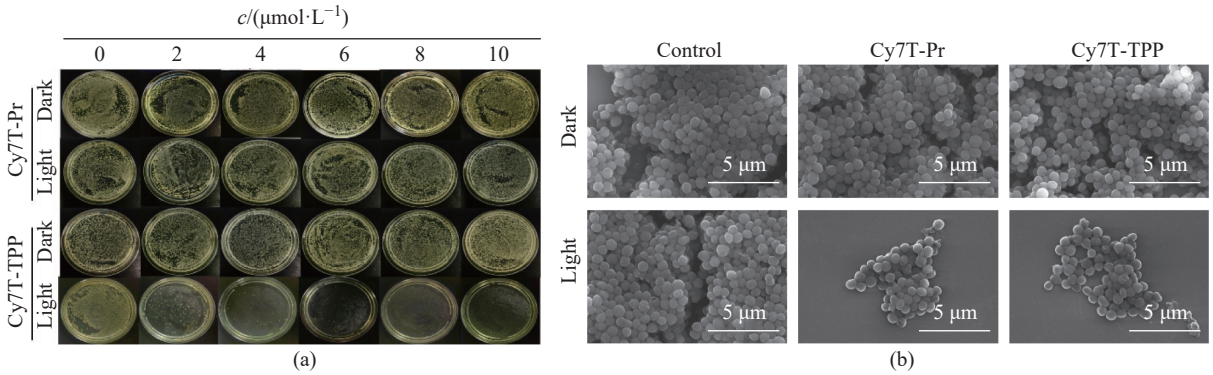

图 9　平板菌落计数 (a) 及 SEM 观测 (b)

Fig. 9　Plate counting (a) and SEM observation (b)

组仅见局部损伤, 印证了 TPP^+修饰对光热杀伤效应的强化作用。活/死细菌双染色结果显示 (图 8(c)), 光照后 Cy7T-TPP 处理组呈现强烈红色荧光, 表明其可高效杀灭细菌。

2.6.3　生物膜清除与作用机制　针对临床常见的细菌生物膜感染问题, 研究构建了 *S. aureus* 成熟生物膜模型(培养 48 h)。结果显示, Cy7T-TPP 与生物膜共孵育后经激光照射(808 nm, 0.5 W/cm², 10 min), 其生物膜瓦解能力显著强于 Cy7T-Pr (图 10(a))。活/死细菌双染色结合 CLSM 3D 层扫技术进一步表明 (图 10(b)), Cy7T-TPP 能有效穿透生物膜表面致密的胞外聚合物(EPS)屏障, 深入内部并降低活菌比例 (图 10(b)), 展现出优异的穿透性抗菌特性。这一优势为治疗皮肤及组织器官的生物膜感染提供了关键支持。

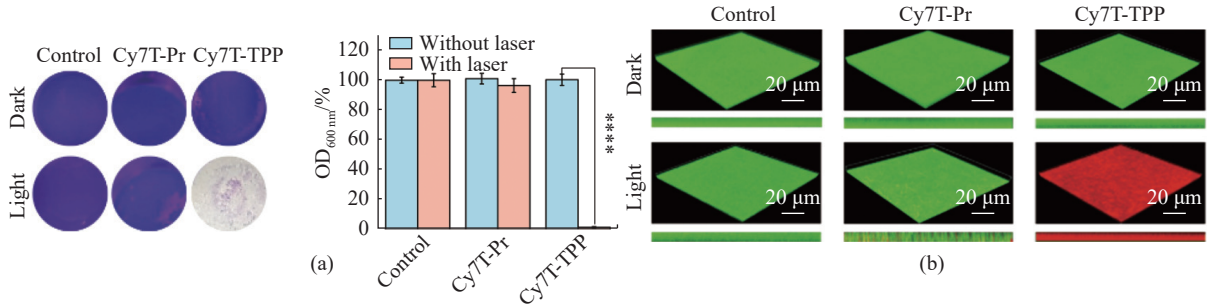

图 10　Cy7T-TPP、Cy7T-Pr 的成熟生物膜清除能力 (a) 及 3D 共聚焦成像 (b)。使用单因素方差分析检验统计显著性 (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.000 1)

Fig. 10　Mature biofilm clearance ability (a) and 3D confocal imaging (b) of Cy7T-TPP and Cy7T-Pr. Use one-way ANOVA to test statistical significance (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.000 1)

综上, Cy7T-TPP 通过 TPP^+的正电靶向作用, 实现了对细菌膜的高效锚定与生物膜穿透, 结合其优异的光热转换性能, 在游离细菌及生物膜感染的治疗中均展现出显著优势, 为开发多场景抗菌光热材料提供了实验依据。

3　结　论

(1)本文采用增强 H-聚集的策略, 在 Cy7T-Pr 骨架上引入 TPP^+, 构筑了一种新型阳离子花菁衍生物 Cy7T-TPP, 以增强 PTT 效果。

(2)与 Cy7T-Pr 相比, Cy7T-TPP 在水中自组装形成的纳米粒子显示出明显的 H-聚集特征。亲脂性阳离子 TPP^+的引入诱导了紧密的 H-聚集体结构的形成, 以及通过增强分子间相互作用促进非辐射跃迁, 使光热转换效率提升至 51.65%; TPP^+的正电荷特性赋予其细菌膜锚定与线粒体靶向能力, 这为染料在线粒体和细菌膜表面聚集和有效的 PTT 提供保障; 大位阻的 TPP^+基团可屏蔽 ROS 对发色团的攻击, 显著提高材料稳定性。

(3)Cy7T-TPP 不仅在溶液和细胞实验中均表现出优异的 PTT 性能, 而且在肿瘤细胞和小鼠肿瘤模型中均表现出显著的肿瘤杀伤效果。并且, Cy7T-TPP 对 *S. aureus* 也具有很高的抗菌 PTT 功效, 可以在体外有效地清除生物膜。

(4)这项工作通过分子工程策略, 协同优化聚集态与功能基团, 为开发高效稳定的有机光热材料提供了新的设计思路。

参考文献:

[1] 田君, 张伟安. 氟化透明质酸光敏剂负载聚多巴胺纳米粒子用于乏氧肿瘤的光动力与光热协同治疗 [J]. 华东理工大学学报 (自然科学版), 2019, 45(2): 285-292.

[2] QI X, XIANG Y, CAI E, *et al*. Inorganic-organic hybrid nanomaterials for photothermal antibacterial therapy [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2023, 496: 215426.

[3] WEI S, HOU H, WU Y, *et al*. Superimposed effect of intramolecular modular assembling and silver coordination to amplify superoxide anion radical for antitumor and antibacterial photodynamic therapy[J]. ACS Materials Letters, 2025, 7(5): 1887-1895.

[4] WANG R, KIM K H, YOO J, *et al*. A nanostructured phthalocyanine/albumin supramolecular assembly for fluorescence turn-on imaging and photodynamic immunotherapy[J]. ACS Nano, 2022, 16(2): 3045-3058.

[5] 张紫薇, 李高阳, 李梦丽, 等. 用于肿瘤靶向治疗的双药递送、多重环境响应型核交联胶束 [J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2024, 50(4): 469-480.

[6] GENG B, HU J, HE X, *et al*. Single atom catalysts remodel tumor microenvironment for augmented sonodynamic immunotherapy[J]. Advanced Materials, 2024, 36(25): 2313670.

[7] CHEN W, WANG Z, TIAN M, *et al*. Integration of TADF photosensitizer as “electron pump” and BSA as “electron reservoir” for boosting type Ⅰ photodynamic therapy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2023, 145(14): 8130-8140.

[8] LV X, JIANG J, REN J, *et al*. Nitric oxide-assisted photodynamic therapy for enhanced penetration and hypoxic bacterial biofilm elimination[J]. Advanced Healthcare Materials, 2023, 12(29): 2302031.

[9] BAI Y, HU Y, GAO Y, *et al*. Oxygen self-supplying nanotherapeutic for mitigation of tissue hypoxia and enhanced photodynamic therapy of bacterial keratitis[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2021, 13(29): 33790-33801.

[10] DING Z, GU Y, ZHENG C, *et al*. Organic small molecule-based photothermal agents for cancer therapy: Design strategies from single-molecule optimization to synergistic enhancement[J]. Coordination Chemistry Reviews, 2022, 464(1): 214564.

[11] PAN J, DU J, HU Q, *et al*. Photo-induced electron transfer-triggered structure deformation promoting near-infrared photothermal conversion for tumor therapy[J]. Advanced Healthcare Materials, 2023, 12(27): 2301091.

[12] JUNG H S, VERWILST P, SHARMA A, *et al*. Organic molecule-based photothermal agents: An expanding photothermal therapy universe[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(7): 2280-2297.

[13] ZHAO L, ZHU H, DUO Y Y, *et al*. A Cyanine with 83.2% photothermal conversion efficiency and absorption wavelengths over 1200 nm for photothermal therapy[J]. Advanced Healthcare Materials, 2024, 13(20): 2304421.

[14] YUAN J, YANG H, HUANG W, *et al*. Design strategies and applications of cyanine dyes in phototherapy[J]. Chemical Society Reviews, 2025, 54(1): 341-366.

[15] LIANG M, MU X, LI Y, *et al*. Heptamethine cyanine-based nanotheranostics with catalase-like activity for synergistic phototherapy of cancer[J]. Advanced Functional Materials, 2023, 33(37): 2302112.

[16] FENG E, LIU Y, LV S, *et al*. Fine-tuning Cu (II)-induced self-assembly of hydrophilic cyanine dyes for enhanced tumor photothermal therapy[J]. Advanced Functional Materials, 2022, 32(51): 2209258.

[17] WEI K, WU Y, LI P, *et al*. Modulating planarity of cyanine dye to construct highly stable H-aggregates for enhanced photothermal therapy[J]. Nano Research, 2023, 16(1): 970-979.

[18] ZIELONKA J, JOSEPH J, SIKORA A, *et al*. Mitochondria-targeted triphenylphosphonium-based compounds: Syntheses, mechanisms of action, and therapeutic and diagnostic applications[J]. Chemical Reviews, 2017, 117(15): 10043-10120.

[19] KABATC J, JUREK K. New two- and three-cationic polymethine dyes. Synthesis, properties and application [J]. Dyes and Pigments, 2015, 112: 24-33.

[20] LIN B, FAN L, ZHOU Y, *et al*. A benzothiazolium-based fluorescent probe with ideal pK_a for mitochondrial pH imaging and cancer cell differentiation[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2020, 8(46): 10586-10592.

[21] ZHANG T, PENG GUO K, QIU L, *et al*. Magnesium ethoxide as an effective catalyst in the synthesis of dicayanomethylendihydrofurans[J]. Synthetic Communications, 2006, 36(10): 1367-1372.

[22] 梁明晨. 七甲基川菁衍生物纳米诊疗剂用于肿瘤的协同光疗 [D]. 山东青岛: 青岛科技大学, 2023.

[23] 谭远航. 基于七甲川菁自组装材料构筑的多功能性光热诊疗体系 [D]. 山东青岛: 青岛科技大学, 2023.

[24] YAO D, WANG Y, ZOU R, *et al*. Wavelength-adjustable butterfly molecules in dynamic nanoassemblies for extradomain-B fibronectin-modulating optical imaging and synchronous phototherapy of triple-negative breast cancer[J]. Chemical Engineering Journal, 2021, 420(2): 127658.

[25] GUAN Q, ZHOU L L, LI Y A, *et al*. Nanoscale covalent organic framework for combinatorial antitumor photodynamic and photothermal therapy[J]. ACS Nano, 2019, 13(11): 13304-13316.

[26] WANG Y, LIU X-H, KOVALENKO S A, *et al*. Atomic-

ally precise bimetallic nanoclusters as photosensitizers in photoelectrochemical cells[J]. Chemistry—A European Journal, 2019, 25(18): 4814-4820.

[27] NIU G, SONG G, KANG Y, *et al*. Quinoidal semiconductor nanoparticles for NIR-II photoacoustic imaging and photoimmunotherapy of cancer[J]. Advanced Materials, 2025, 37(6): 2415189.

[28] JIANG Y, HUANG S, MA H, *et al*. RNA-activatable near-infrared photosensitizer for cancer therapy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2024, 146(36): 25270-25281.

Triphenylphosphine Modified Cyanine H-Aggregates for Targeted Enhanced Photothermal Therapy

WEI Siwen[1,2], HOU Haoran[2], SONG Fengling[1,2]

(1. Shenzhen Research Institute of Shandong University, Shenzhen 518057, Guangdong, China; 2. Frontiers Science Center of Smart Materials Oriented Chemical Engineering, School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning, China)

Abstract: Photothermal therapy (PTT) provides a new approach for the treatment of tumors and bacterial infections. It relies on photothermal agents (PTAs) to absorb near-infrared light, dissipate the non-radiative energy generated by photoexcitation to the lesion site, and achieve thermal ablation of local tissues. However, the development of organic PTAs with both efficient photothermal conversion and precise targeting functions is challenging.This paper focuses on the molecular engineering optimization of heptamethine cyanine (Cy7) dye molecules, and proposes a strategy of aggregate state regulation and synergistic enhancement of functional groups. A novel cationic derivative Cy7T-TPP is constructed by introducing triphenylphosphine cation (TPP^+) into the neutral cyanine skeleton. This derivative has three advantages: TPP^+ endows it with bacterial membrane anchoring and mitochondrial targeting capabilities; it induces H-aggregates to enhance the close stacking between molecules, with a photothermal conversion efficiency of 51.65%; TPP^+ shields against reactive oxygen species attack and improves stability. Experiments have confirmed that Cy7T-TPP has excellent anti-tumor and antibacterial efficacy, providing a new molecular engineering paradigm for the development of highly stable and targeted organic photothermal materials.

Key words: photothermal therapy; mitochondrial targeting; bacterial targeting; cyanine dye; H-aggregate

（责任编辑：张欣）