

#### 引文格式

韩晨, 孟红敏, 李朝辉. 有机余辉材料的类别及其在生物分析成像中的研究进展[J]. 集成技术, 2024,?(?):??

#### Citing format

Han C, Meng HM, Li ZH. Categories of organic afterglow materials and research progress in bioanalytical imaging[J]. Journal of Integration Technology, 2024,?(?):??

## 有机余辉材料的类别及其在生物分析成像中的研究进展

韩晨<sup>1</sup>, 孟红敏<sup>1</sup>, 李朝辉<sup>1</sup>

<sup>1</sup> (郑州大学化学学院, 郑州 450001)

**摘要:** 有机余辉材料是一类具有余辉性质的光学材料, 其能够在光照结束后进行长时间发光, 从而延长成像时间并提高成像灵敏度。相较于无机余辉材料而言, 有机余辉材料凭借其灵活的可设计性与良好的生物相容性已被广泛应用于生物分析中。此外, 余辉成像由于不需要实时激发光源, 因而可以有效消除生物组织自身荧光信号的干扰。因此, 余辉成像在活体成像信背比和分析灵敏度方面具有明显的优势。基于此, 本文综述了近年来有机余辉材料的最新进展, 并对已报道的有机余辉材料在生物分析和余辉成像中的医学应用进行了较全面总结。最后, 讨论了有机余辉材料在分子构建及临床成像中的应用前景及存在的挑战。

**关键词:** 有机余辉材料; 余辉成像; 生物传感; 肿瘤诊疗

**中图分类号:** O 4 8 2. 3 1 doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20231122001

## Categories of organic afterglow materials and research progress in bioanalytical imaging

HAN Chen<sup>1</sup>, MENG Hongmin<sup>1</sup>, LI Zhaohui<sup>1</sup>

<sup>1</sup> (College of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou, 450001, China)

来稿日期: yyyy-mm-dd 修回日期: yyyy-mm-dd

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(22374136, 22274143)

作者简介: 韩晨, 在读博士, 研究方向为新型有机余辉纳米探针的合成及应用; 孟红敏, 副教授, 研究方向为新型荧光/余辉纳米探针在疾病诊疗方面的应用, E-mail: hmmeng2017@zzu.edu.cn; 李朝辉 (通讯作者), 教授, 研究方向为功能纳米材料的构建及应用, E-mail: zhaohui.li@zzu.edu.cn

**Abstract:** Organic afterglow material is an optical material possessing afterglow properties, and can emit light for an extended period following excitation, thereby increase imaging duration and sensitivity. Organic afterglow materials are commonly utilized in biological analysis due to their flexible design and good biocompatibility. Owing to the light-excitation-free luminescence, the afterglow luminescence can circumvent the interference of tissue auto-fluorescence, and provide higher signal-to-background ratio and sensitivity superior to fluorescence. This review provides an overview of the recent advances in organic afterglow materials, which comprehensively summarizes the reported medical applications of these materials in bioanalysis and afterglow imaging. Finally, the article discusses the prospects and challenges of using organic afterglow materials in molecular construction and clinical imaging.

**Key words:** organic afterglow material; afterglow imaging; biosensing; tumor diagnosis and treatment

**Funding:** This project is supported by the National Natural Science Foundation of China (22374136, 22274143)

## 1 引言

光学成像技术因具有无创性、高时空分辨率等优势,已成为疾病诊断和治疗监测的强有力工具<sup>[1]</sup>。光学生物成像技术,包括荧光成像、光声成像和余辉发光成像等,近几年引起了广泛关注。与磁共振成像、计算机断层扫描、正电子发射断层扫描等传统断层扫描方式相比,光学成像技术具有更高的成像灵敏度和时空分辨率,可以在分子、微观和宏观水平上揭示生物过程<sup>[2-7]</sup>。荧光成像技术因其成本低廉、操作简单、无创等特点,被广泛应用于生物医学研究和临床诊断中。然而,由于荧光成像过程中需要实时激发光源,因此生物组织不可避免的产生光吸收、散射和自发荧光,进一步限制了光信号在生物组织的穿透深度,造成较低的信号背景比,从而影响体内成像的灵敏度<sup>[8,9]</sup>。尽管生物发光成像和化学发光成像不需要实时激发光源,然而它们需要特定的酶或底物<sup>[10,11]</sup>。相比之下,近年来兴起的余辉成像技术作为一种非常有前景的成像技术而引起了科研工作者的极大兴趣。该成像技术的原理主要是利用化学缺陷在外部光照射停止后持续数分钟甚至数天持续发光,避免了生物自发荧光的背景干扰,同时,余辉成像与体内的酶含量和分布无关,从而获得了理想的信号背景比和成像灵敏度。此外,由于余辉底物可以充当光学电池,在光照射时存储光能,所以余辉材料的余辉发射是可重复的<sup>[12,13]</sup>。

余辉材料通常分为无机余辉材料与有机余辉材料。目前,基于重金属或稀土金属(例如铬、铈、镨和镱)的无机余辉材料已被成功应用于肿瘤、血管成像以及癌细胞靶向、示踪等领域<sup>[14,15]</sup>。然而,由于潜在的重金属离子泄露以及对特定分子的靶向能力有限,无机余辉材料在生物医学领域的应用仍然受到很大的限制。相比之下,有机余辉材料由于具有较好的生物相容性和结构多样性等特点,在光学成像领域显示出巨大的应用潜力。近年来,基于已发现的具有余辉性质的半导体聚合物和小分子<sup>[16]</sup>,例如聚苯乙烯(PPV)及其类似物、基于噻吩的半导体聚合物、金刚烷基烯醇醚(AEEs)、卟啉类化合物、1,4-二恶英(DO)、1,4-恶硫磷(SO)、Cypridina 荧光素类似物(CLA)、红荧烯、半菁类似物(HD)(图1)。

科研人员将它们发展为余辉成像探针用于多种生物医学应用，包括转移性肿瘤追踪、关节炎成像、淋巴结定位、药物释放监测、生物标志物检测、肿瘤温度指示、癌症手术、药物输送和追踪等方面<sup>[17]</sup>。

有机余辉材料在疾病诊断和治疗应用研究中展现出巨大的应用潜力。基于此，本文首先对多种有机余辉底物的发光原理进行了简单的介绍，并讨论了不同类型的有机余辉材料在生物分析以及余辉成像中的应用进展。最后，我们对有机余辉材料及余辉成像领域目前存在的挑战和应用前景进行了简要的总结和讨论。

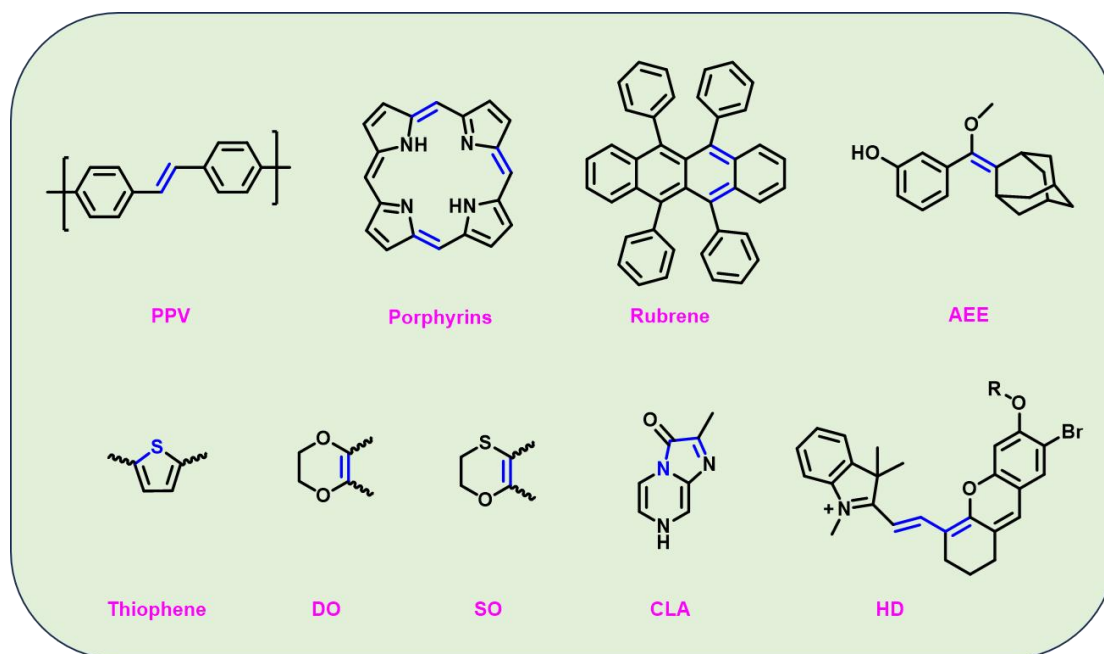


图 1 有机余辉分子母体结构

Fig. 1 Organic molecular afterglow substrates

## 2 有机余辉底物的发光原理

有机余辉材料的发光机理如图 (2a) 所示。在外部光照射下，余辉底物通过系统间交叉 (ISC) 从最低激发态单重态 ( $S_1$ ) 到高能三重态 ( $T_1$ )，光子能量转移到周围的氧中产生  $^1O_2$ 。随后，余辉基底与  $^1O_2$  反应形成不稳定的中间体，其分解释放热能或通过化学引发的电子交换发光直接发射光子。最后，该能量激发周围的余辉中继单元。如果光敏剂的激发波长与余辉中继单元的发射波长重叠，还可以进一步激发光敏剂，使余辉发射红移<sup>[16]</sup>。此外，还有其他类型的基于有机材料的持续发光，包括由非辐射 ISC 引起的有机超长室温磷光和由反向 ISC 引起的热激活延迟荧光。然而，它们的发光时间通常为数毫秒级。

### 2.1 聚苯乙烯类余辉材料

PPV 的核心结构是具有共轭结构的苯乙烯。共轭聚合物聚[2-甲氧基-5-(2-乙基己氧基)-1,4-苯撑乙烯撑] (MEHPPV) 是 PPV 的一种衍生物，具有不对称侧链，因此可溶于大多数有机溶剂中。2015 年，斯坦福大学 Rao 等人首次报道了一种基于 MEHPPV 的纳米颗粒，在单次激发下可以产生持续一小时的发光。这种新型持久发光纳米粒子已被证明可用

于活体小鼠的光学成像<sup>[18]</sup>。2017年，新加坡南洋理工大学 Pu 等人通过一系列实验得出了 PPV 中苯乙烯结构是产生余辉性能的关键结构。还发现只有含有强供电子取代基的 PPV 才具有优良的余辉发光性能。而其他具有弱供电子基或强吸电子取代基的衍生物则没有此现象。此外，Pu 等人还研究了 PPV 的余辉发光机理（图 2b）。如图所示，PPV 经过光照产生  $^1\text{O}_2$ ，通过  $\pi^2$ - $\pi^2$  环加成氧化亚乙烯基键（C=C）形成二氧杂环丁烷中间体。该中间体不稳定，可以自发降解为 PPV-醛并产生光子。PPV-醛进一步氧化产生光照反应的最终产物 PPV-羧基<sup>[19]</sup>。

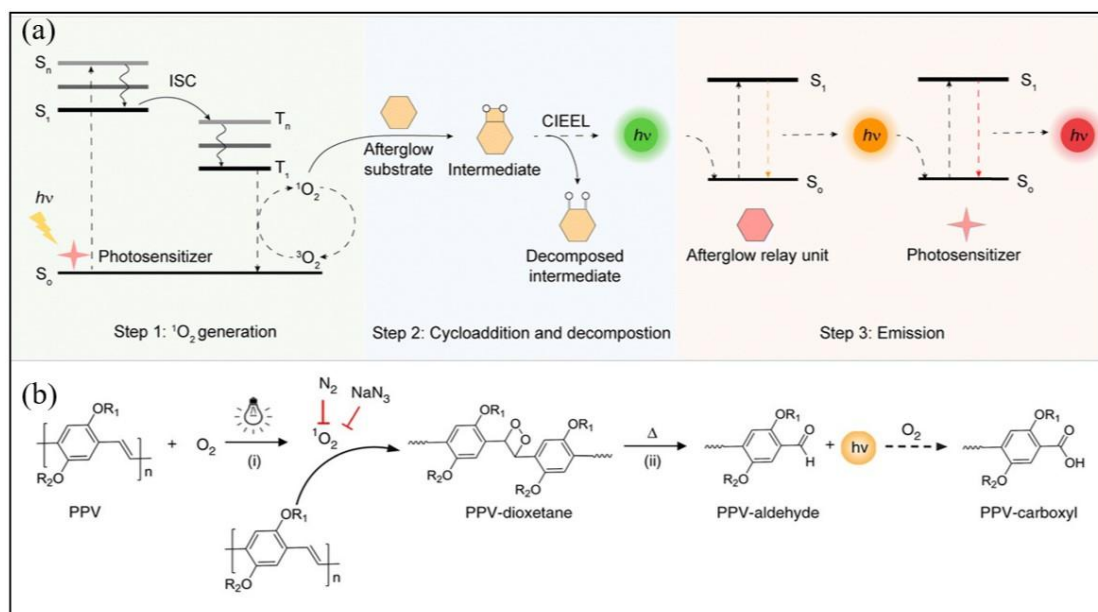


图 2 (a)有机材料的余辉产生机理<sup>[16]</sup>；(b)基于 PPV 的余辉发光机制<sup>[19]</sup>

Fig. 2 (a) Afterglow mechanism of organic materials<sup>[16]</sup>；(b) Proposed mechanism for the afterglow luminescence of PPV<sup>[19]</sup>

## 2.2 噻吩类余辉材料

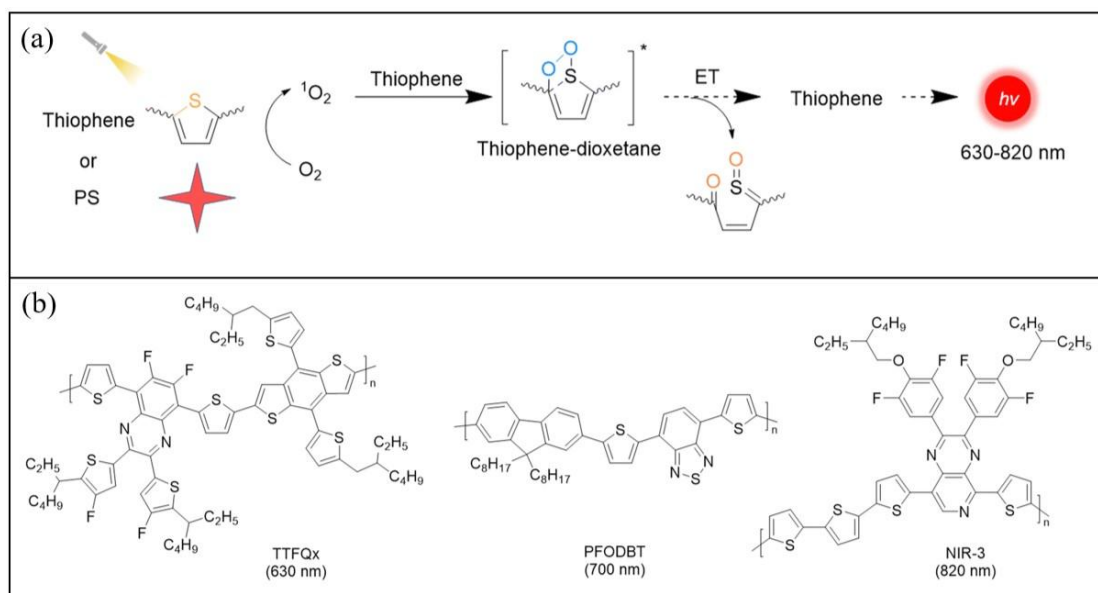


图 3 基于噻吩的余辉材料的余辉机理(a)和化学结构(b) [16]

Fig. 3 (a) Afterglow mechanism and (b) Chemical structure of thiophene-based afterglow substrates [16]

噻吩是具有共轭结构的含硫单环杂芳烃。聚噻吩作为一种半导体聚合物，已在光电领域得到广泛应用，与其他聚合物结合可用作发光二极管或光电探测器<sup>[20]</sup>。2021年，湖南大学 Zhang 等人报道了几种基于噻吩的半导体聚合物，它们能够在生理条件下以半导体聚合物纳米粒子（SPNs）的形式发出余辉(图 3b)。Zhang 等人并对半导体聚合物聚茱-二噻吩基苯并噻二唑（PFODBT）的余辉发光机理进行了探究<sup>[21]</sup>。噻吩基余辉材料的发光机理类似于 PPV，即材料在光照射下敏化氧气产生  $^1\text{O}_2$ ， $^1\text{O}_2$  进而氧化噻吩的 S-C 键，通过  $\pi^2-\pi^2$  环加成反应形成中间体，该中间体极不稳定，容易发生 O-O 键断裂，形成乙磺酸酯产物，进而产生余辉（图 3a）。

### 2.3 金刚烷基烯醇醚类和卟啉类化合物余辉材料

AEEs 是 Schaap 二氧杂环丁烷的烯醇醚前体<sup>[22]</sup>，是一组最常用的余辉底物，具有多样性的结构。已有研究证明它与  $^1\text{O}_2$  发生反应，并在有机溶剂中添加氟化物后发出明亮的可见光<sup>[23]</sup>。AEEs 的发光机理为自身的乙烯基键与  $^1\text{O}_2$  反应形成 Schaap 二氧杂环丁烷，去质子化后，Schaap 二氧杂环丁烷迅速分解，并通过化学引发电子交换发光产生明亮的发光，形成最终产物苯甲酸酯(图 4a)。由于 AEEs 在光照射下不会产生  $^1\text{O}_2$ ，因此若想基于 AEEs 构建余辉材料，必须要与光敏剂共存才能引发余辉<sup>[24]</sup>。

卟啉是由四个吡咯亚基的  $\alpha$ -碳原子通过亚甲基桥（=CH-）互连而成的一类高分子杂环化合物。早期，卟啉衍生物作为光敏剂、荧光剂和光热剂使用。2022年，Ding 等人首次报道了卟啉衍生物在激发光停止或与过氧亚硝酸盐相互作用后在近红外区域具有固有的持久发光<sup>[25]</sup>。通过分子筛选发现焦脱镁叶绿酸 A（Ppa）显示出强烈的持续发光信号，峰值位于 760 nm，持续时间超过 60 分钟，并且对过氧亚硝酸盐激活具有高选择性(图 4b)。此外，Ding 等人还对于卟啉这种持久发光现象，提出了亚乙烯基键连续氧化的作用机制。即  $^1\text{O}_2$  将卟啉衍生物氧化成碎片，进而形成不稳定的二氧杂环丁烷中间体，该中间体自发分解，释放能量以激发未反应的 Ppa 并产生余辉发射（图 4c）。最后还构建了具有  $\beta$  折叠结构的超分子探针，以增强肿瘤靶向能力以及光声和持续发光信号。

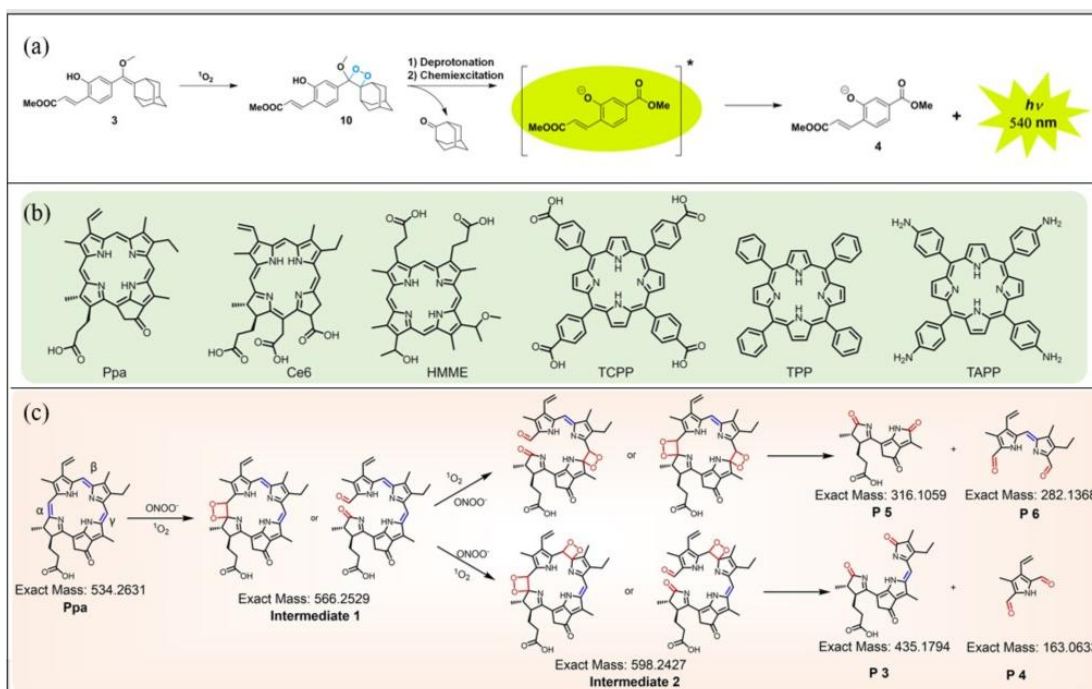


图 4 (a) AEEs 产生黄绿色余辉发光的机理<sup>[24]</sup>; (b) 六种卟啉衍生物的化学结构<sup>[25]</sup>; (c) Ppa 的持久发光机理<sup>[25]</sup>

Fig. 4 (a) Mechanism of AEEs to generate yellow-green afterglow luminescence<sup>[24]</sup>; (b) Chemical structures of six porphyrin derivatives<sup>[25]</sup>; (c) Proposed mechanism for persistent luminescence of Ppa<sup>[25]</sup>

#### 2.4 1, 4-二恶英或 1, 4-恶硫磷类余辉材料

DO 和 SO 是典型的含有乙烯基键的余辉底物, 可以被  $^1O_2$  氧化形成 1,2-二氧杂环丁烷, 并自发分解产生不稳定的化合物。处于激发态的中间体, 能量返回基态时可以发出明亮的发光<sup>[16]</sup> (图 5a)。由于 DO 或 SO 也不能产生  $^1O_2$ , 所以也需要与光敏剂共存。值得注意的是, Li 等人在 2022 年报道了一种新型余辉底物 (CUEM), 通过将 SO 与提供电子密度的三苯胺基团共价结合来增强 SO 的  $^1O_2$  反应性 (图 5b)。三苯胺基团还充当高效发光体, 以提高整体余辉亮度。CUEM 比甲苯中的物理混合或共价耦合 (CU-EM) 产生更亮、更持久的蓝色余辉, 并具有高余辉量子产率。这项研究为通过与供电子基团的分子融合来优化 DO 和 SO 的余辉提供了新的思路<sup>[26]</sup>。

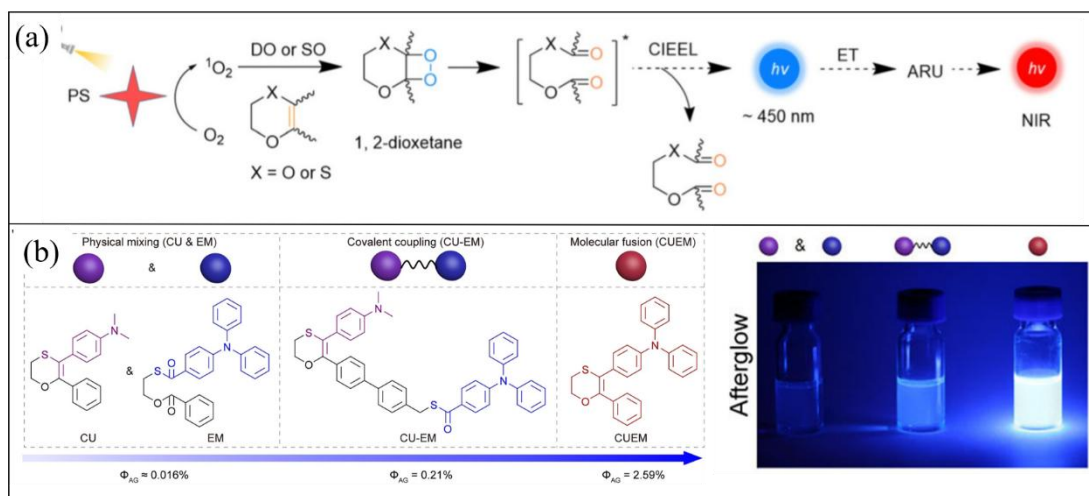


图 5 (a) 基于 DO/SO 余辉底物的余辉机理<sup>[16]</sup>; (b) 提高光化学体系余辉量子产率的策略和 CU、EM、



**Fig. 5** (a) Afterglow mechanism of DO/SO-based afterglow substrates<sup>[16]</sup>; (b) Strategy for improving afterglow quantum yield of the photochemical system and the chemical structures of CU, EM, CU-EM and CUEM<sup>[26]</sup>

## 2.5 荧光素类似物、红荧烯和半菁类似物余辉材料

CLA 常作为用于检测  $^1\text{O}_2$  的发光化合物<sup>[27]</sup>。CLA 可以与光敏剂产生的  $^1\text{O}_2$  反应，形成二氧杂环丁酮中间体，该中间体自发脱羧，产生单线激发态的酰胺吡嗪，当弛豫到基态时会发出余辉（图 6a）。尽管 CLA 可以作为余辉底物，但使用 CLA 作为余辉底物的报道非常少，这是因为其在溶液中的余辉强度仍然不能让人满意。

红荧烯是一种发黄光的多环芳香烃，先前的研究报道称，红荧烯能够经历快速光氧化，产生不稳定的红荧烯内过氧化物，然后在酸催化下分解，形成类并四苯的产物，同时释放苯酚基团。由于这种分解过程是放热的，因此可以释放多余的能量以激发周围未反应的红荧烯并发出冷光发射<sup>[28]</sup>（图 6b）。但由于红荧烯的余辉性能与前文介绍的底物相比还有很大的差距，以及其相应的能量转移机理还需进一步讨论验证，所以相关的报道并不多见。

传统的有机余辉探针大都是纳米颗粒，且大多是通过受体进行控制余辉信号的发射，而基于单独有机小分子的可激活余辉成像系统却鲜有报道。最近，湖南大学 Zhang 等人通过引入重原子来提高其生成单线态氧能力，报道了一系列基于半花菁的余辉小分子，并将它们开发为可激活的余辉探针，用于高对比度分子余辉成像<sup>[29]</sup>。该小组还详细描述了 HD 余辉发光的分子机制，即 HD 分子将吸收的光能转移给氧气生成  $^1\text{O}_2$ ，随后  $^1\text{O}_2$  攻击 HD 形成亚稳态内过氧化物中间体，最后内过氧化物的缓慢分解将能量转移到发射器，伴随着光子的释放（图 6c）。

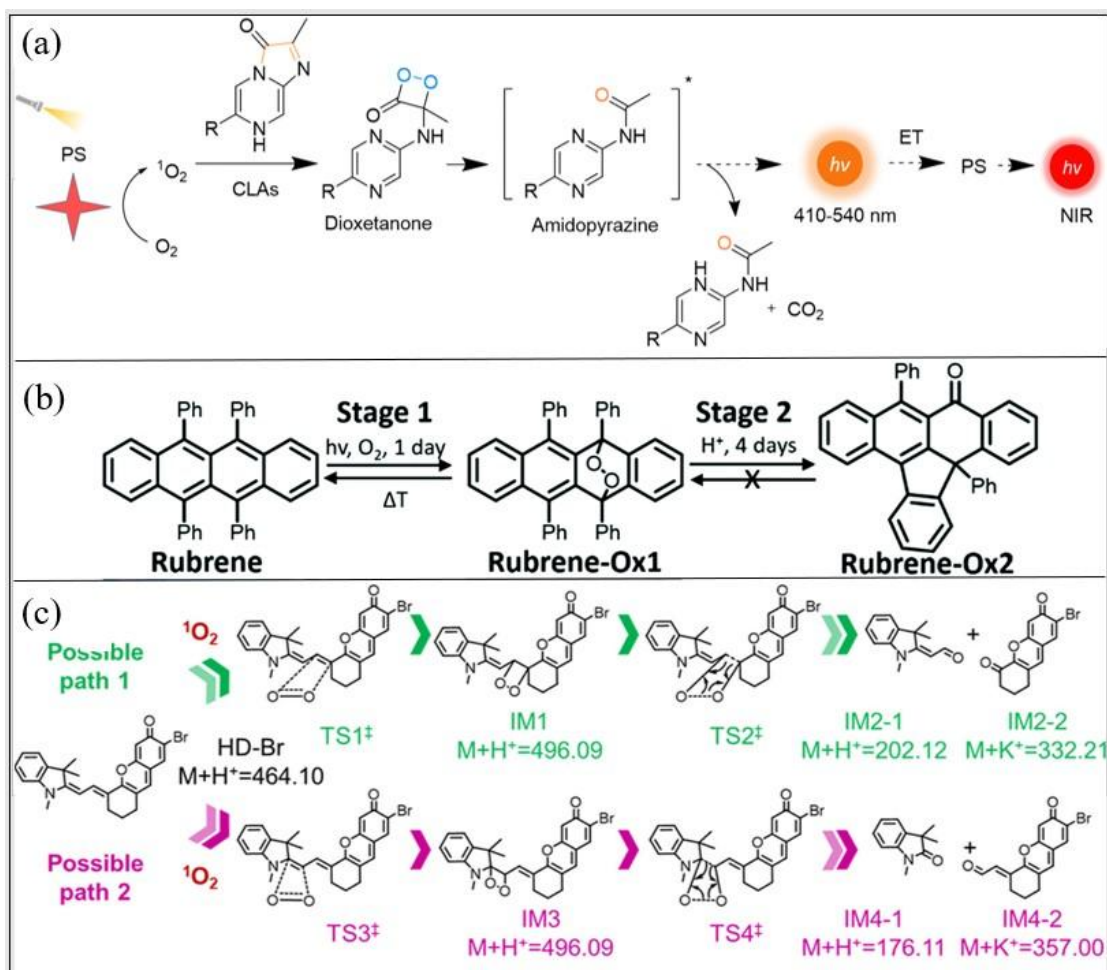


图 6 (a) 基于 CLA 余辉底物的余辉机理<sup>[16]</sup>；(b) 基于红荧烯余辉底物的余辉机理<sup>[28]</sup>；(c) HD-Br 余辉发光机理<sup>[29]</sup>

Fig. 6 (a) Afterglow mechanism of CLA-based afterglow substrates<sup>[16]</sup>；(b) Afterglow mechanism of rubrene-based afterglow substrates<sup>[28]</sup>；(c) Luminescence mechanism for afterglow of HD-Br<sup>[29]</sup>

### 3 有机余辉材料在生物分析成像中的应用

余辉材料自身性能的优劣，往往决定其在生物应用中的范围。一类好的余辉材料，往往具有较高的亮度、能够发射较长的波长、具有较长的半衰期、较强的单线态氧产生能力以及较好的水溶性等性能。如今，科研人员通过将余辉母体进行改性，赋予其优异性能，开发了多种余辉成像探针，并将其用于生物医学方面的研究。

#### 3.1 聚苯乙烯类余辉材料在生物分析成像中的应用

2017 年，新加坡南洋理工大学 Pu 等人开发了一种纳米余辉探针（SPN-thiol），其仅存在生物硫醇的情况下激活，用于早期检测活体小鼠中药物引起的肝毒性<sup>[19]</sup>（图 7a-b）。2019 年，Pu 等人提出了一种将普通荧光剂转化为余辉发光纳米颗粒（ALNP）用于体内成像的通用方法。这种方法依赖于余辉引发剂、余辉基质和余辉中继单元三个关键组件的颗粒内级联光反应，将光能存储为化学缺陷，以在光激发停止后延迟发光<sup>[30]</sup>。同年，Pu 等人通过将近红外光敏剂四苯基卟啉与阳离子季铵基团纳入 PPV 骨架中，使发射产生红移并放大了余辉信号。进一步通过静电作用与猝灭剂结合构建了纳米复合物（ASPNC），用于癌症外泌体的特异性检测<sup>[31]</sup>（图 2c-d）。

2020 年，南京大学 Ye 等人优化了一种有机电致变色材料（EMF1<sup>2+</sup>），并将其集成到近红外光敏剂（NIR775）和 MEHPPV 中，开发了一种 H<sub>2</sub>S 激活的近红外余辉探针（F1<sup>2+</sup>-ANP）。该探针能够高灵敏度和特异性地测量健康人、肝癌或结直肠癌患者血液中的 H<sub>2</sub>S（图 2e）。该课题组进一步构建了一种肝肿瘤靶向和 H<sub>2</sub>S 激活的余辉探针（F1<sup>2+</sup>-ANP-Gal）。引人注目的是，F1<sup>2+</sup>-ANP-Gal 可以准确地勾画出肝癌切除标本中的肿瘤边缘<sup>[32]</sup>（图 2f）。2020 年，同济大学 Zhang 等人报告了一种聚集诱导发射染料驱动的纳米余辉发光体用于体内肿瘤成像。其主要思路是利用 AIE 染料的独特性能来规避浓度猝灭效应，进而增强余辉强度并延长余辉持续时间<sup>[33]</sup>。

2023 年，南京大学 Zhen 等人设计合成了肿瘤细胞靶向余辉剂（PPV-PEG-cRGD），将近红外染料硅 2, 3-萘酞菁双(三己基氧化硅)（NCBS）作为余辉引发剂，以及近红外二区吸光半导体聚合物聚(苯并双噻二唑)-(4, 8-双((2-乙基己基)氧基)苯并[1, 2-b:4, 5-b']二噻吩-2, 6-二基)双(三甲基锡烷)（PBBTOT）作为光热传感器，通过自组制备了余辉/光热双功能聚合物纳米颗粒（APPN），用于早期诊断和治疗保乳手术术后的局部复发<sup>[34]</sup>。这项研究为精确的乳腺癌术后辅助治疗和早期复发治疗诊断提供了一种非电离模式。同年，南京邮电大学 Fan 等人报告了一种用于淋巴结和肿瘤成像的单组分有机余辉纳米探针（PPVP-PEG）。这种两亲性聚合物是通过将近红外发射光敏剂四苯基卟啉和聚乙二醇缀合到 PPV 的侧链上而合成的。此外，与通过纳米沉淀制备的类似纳米探针相比，探针（PPVP-PEG）在四苯基卟啉和 PPV 之间具有更高的荧光能量共振转移效率<sup>[35]</sup>。



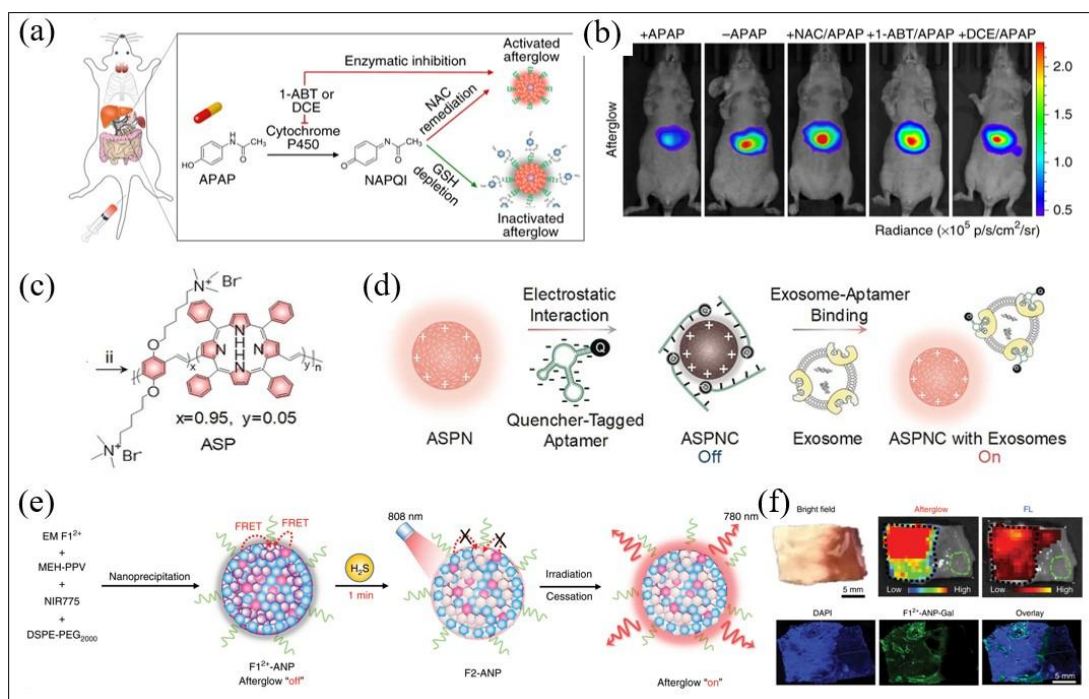


图 7 (a) SPN-thiol 用于 APAP 诱导的肝毒性余辉发光成像的示意图<sup>[30]</sup>；(b) 腹膜内治疗小鼠的代表性余辉发光图像<sup>[30]</sup>；(c) ASP 的化学结构<sup>[31]</sup>；(d) ASPNC 形成及外泌体余辉检测图<sup>[31]</sup>；(e) F1<sup>2+</sup>-ANP 的制备以及近红外余辉发光快速激活机制<sup>[32]</sup>；(f) HCC 标本中肝脏肿瘤组织的余辉成像<sup>[32]</sup>

Fig. 7 (a) Schematic representation of SPN-thiol for afterglow luminescence imaging of APAP-induced hepatotoxicity<sup>[30]</sup>；(b) Representative afterglow luminescence images of mice treated intraperitoneally<sup>[30]</sup>；(c) Chemical structure of ASP<sup>[31]</sup>；(d) Illustration of the formation of ASPNC and the afterglow detection of exosomes<sup>[31]</sup>；(e) Preparation of F1<sup>2+</sup>-ANP and proposed mechanism of fast activation of NIR afterglow luminescence<sup>[32]</sup>；(f) Afterglow imaging of liver tumor tissues in HCC specimens<sup>[32]</sup>

### 3.2 基于噻吩的半导体聚合物余辉材料在生物分析成像中的应用

2021 年，湖南大学 Zhang 等人进一步制备了一种有机余辉纳米报告仪的自循环放大方法用于实时可视化活性氧（图 8a）。主要研究思路为将化学发光底物双-(2, 4, 5-三氯 6-(戊氧羰基)苯基)草酸酯(CPPO)与聚[2, 7-(9, 9-二辛基-芴)-alt-4, 7-双(噻吩-2-基)苯并-2, 1, 3-噻二唑] (PFODBT) 掺杂在一起构建余辉纳米颗粒 (PFODBT@CPPO)，通过 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 的双循环放大途径，使余辉强度显著增强。余辉纳米颗粒 (PFODBT@CPPO) 产生的 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 诱导癌细胞坏死并促进损伤相关分子的释放，从而通过基于活性氧的氧化应激引发免疫原性细胞死亡 (ICD) 相关的免疫反应 (图 8b) [21]。2022 年，该课题组将吡啶并吡嗪引入到基于噻吩的半导体聚合物中，设计了一种具有近红外发射的新型余辉候选物 (NIR-3)，用于在活性氧介导的癌症免疫治疗过程中对自生活性氧进行余辉成像<sup>[36]</sup>。新型余辉候选物 (NIR-3) 本身具有近红外余辉发射功能，而不需要多组分来红移发射波长。重要的是，其自身产生的 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 不仅参与余辉发射过程，而且能够诱导有效的 ICD，增强癌细胞的抗原性 (图 8c)。

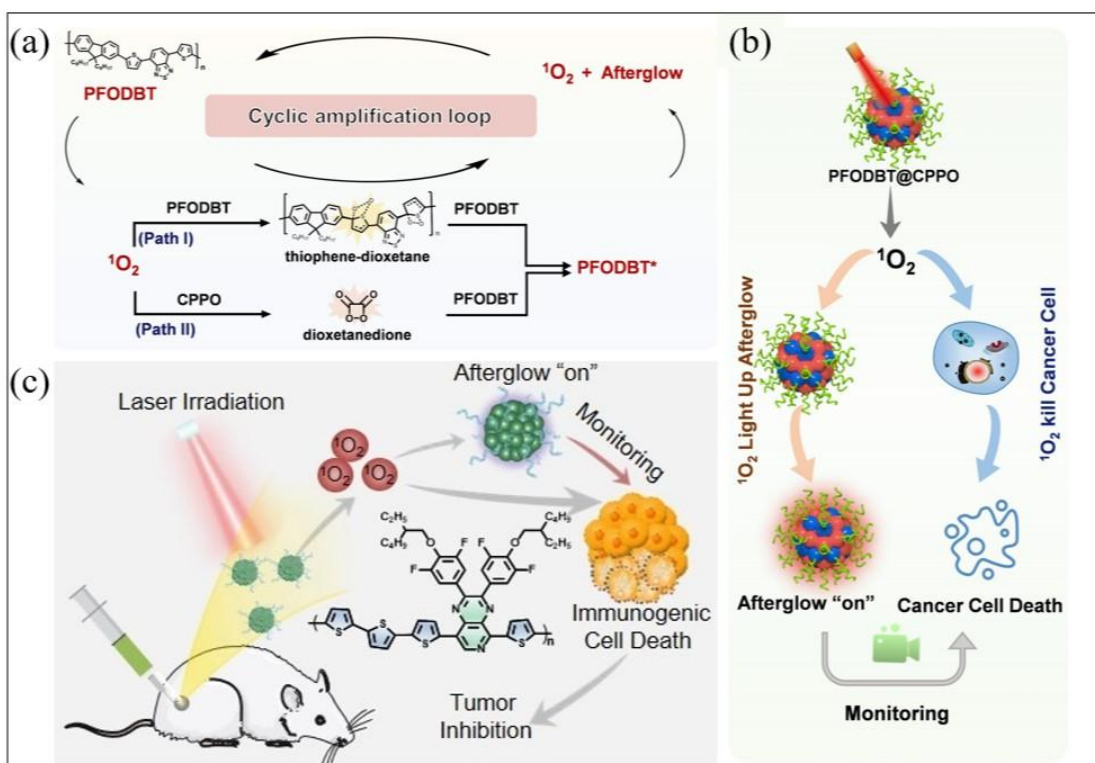


图 8 (a) PFODBT@CPPO 的余辉发光机理; (b)  $^1\text{O}_2$  产生的余辉监测及其与光动力治疗的关联<sup>[21]</sup>; (c) 用于监测癌症免疫治疗的分子结构和近红外余辉成像示意图<sup>[36]</sup>

Fig. 8 (a) The afterglow luminescence mechanism of PFODBT@CPPO; (b) The afterglow monitoring of  $^1\text{O}_2$  generation and correlating with photodynamic therapy<sup>[21]</sup>; (c) Schematic illustration of molecular structures and NIR afterglow imaging for monitoring cancer immunotherapy<sup>[36]</sup>

### 3.3 金刚烷基烯醇醚类余辉材料在生物分析成像中的应用

2019 年,南开大学 Ding 等人设计并合成了具有聚集诱导发射特性的近红外余辉发光纳米颗粒 (AGL AIE dot) (图 9a)。余辉纳米颗粒 (AGL AIE dot) 在单次激发停止后持续发出较高的近红外余辉,持续超过 10 天,且在正常组织 (包括肝脏、脾脏和肾脏) 中具有快速猝灭余辉信号的特性,能够精确引导癌症手术<sup>[24]</sup>。同年, Pu 等人报道了一种有机余辉治疗诊断纳米组件 (APtN),该纳米组件可响应肿瘤相关化学介质 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 来特异性激活药效和诊断信号<sup>[37]</sup>。纳米组件 (APtN) 包含两亲性大分子和近红外染料,分别充当  $\text{H}_2\text{O}_2$  响应性余辉底物和余辉引发剂。这种分子结构使得纳米组件 (APtN) 能够被动地靶向活体小鼠的肿瘤,特异性地在肿瘤中释放抗癌药物 (图 9b)。

2022 年, Ding 等人报告了一种可激活的近红外余辉治疗诊断前药<sup>[38]</sup>,它可以规避外部光激发引起的高背景噪声干扰。该前药可以响应肿瘤内与 ICD 相关的高过氧化硝酸盐水平,从而释放羟基喜树碱,并同步激活余辉信号以监测药物释放过程和从冷到热的肿瘤转化 (图 9c)。同年, Ding 等人再次报道了一种  $\text{ONOO}^-$  和环境 pH 双重响应的余辉发光纳米探针。该纳米探针可以灵敏地揭示急性皮肤炎症的发展过程,包括初到中性粒细胞的浸润和酸化起始时间,快速准确地区分过敏和炎症,并快速筛选能够诱导免疫原性细胞死亡的抗肿瘤药物<sup>[39]</sup>。2022 年,复旦大学 Li 等人同样利用 AEEs 能够捕获  $^1\text{O}_2$ ,形成不稳定的二氧杂环丁烷中间结构,缓慢分解并发出余辉这一特性,开发了一种超长余辉报告基因,以实现卟啉症的简单快速检测<sup>[40]</sup>。2023 年, Ding 等人构建了具有高摩尔消光系数、良好的亮度、优异的活性氧生成率的近红外聚集诱导发射发光体 (TPT-DCM),并将其与 AEEs 辅助的化学发光共振能量转移相结合制备了超长余辉纳米探针 (长达 20 天)。

纳米探针可以成功地通过余辉成像引导手术切除肿瘤，特别是小于 1 毫米的微小肿瘤<sup>[41]</sup>。近期，Pu 等人报道了一种颗粒酶 B 可激活的超声诱导余辉纳米探针（Q-SNAP），用于体内 T 细胞的早期准确检测。为了实现声余辉成像，探针（Q-SNAP）由超声敏化剂 NCBS 和 AEEs 余辉底物组成，该声敏剂在超声作用下能够产生  $^1\text{O}_2$ 。余辉底物在被  $^1\text{O}_2$  氧化后发出余辉，并通过可拆卸的猝灭剂部分来进一步控制余辉的开启<sup>[42]</sup>。凭借超声波的深层组织穿透能力，探针（Q-SNAP）静脉注射后可反复充电，在 小鼠肝脏内发出声余辉，实现对 T 细胞介导的自身免疫性肝炎的实时原位监测和评估预防性免疫抑制治疗（图 9d）。

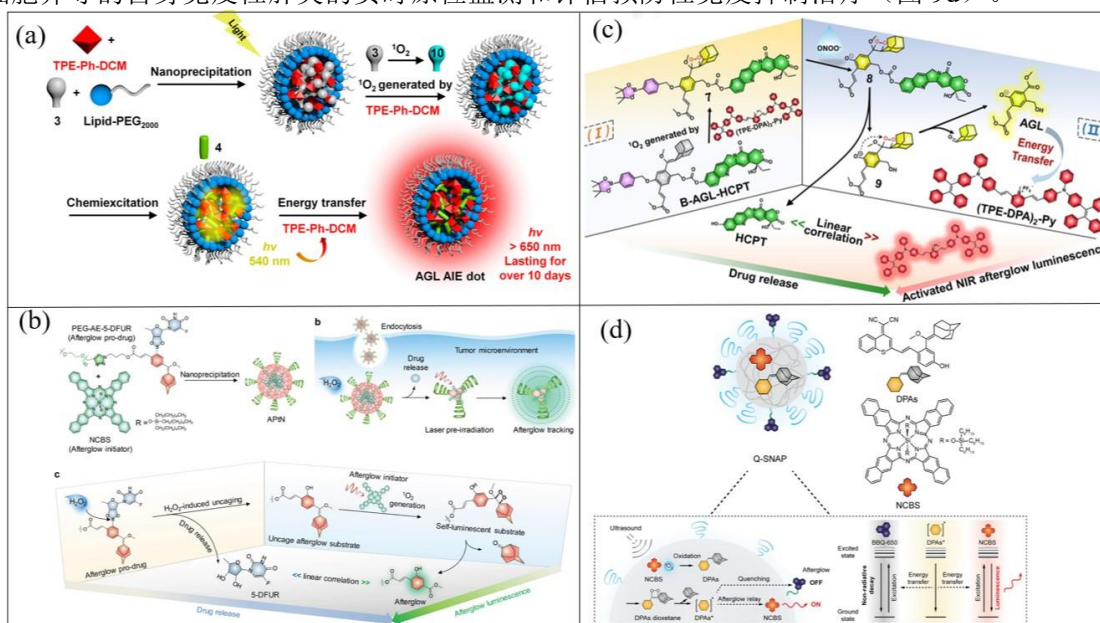


图 9 (a) 纳米颗粒 AGL AIE dot 的近红外余辉发光放大机制示意图<sup>[24]</sup>；(b) APtN 用于癌症治疗诊断的分子机制<sup>[37]</sup>；(c) ONOO<sup>-</sup> 激活的近红外余辉治疗诊断前药的作用机制<sup>[38]</sup>；(d) Q-SNAP 的声余辉猝灭机制<sup>[42]</sup>

Fig. 9 (a) Schematic Illustration of the Mechanism for Amplified NIR Afterglow Luminescence of the AGL AIE Dot<sup>[24]</sup>；(b) Molecular mechanism of APtN for cancer theranostics<sup>[37]</sup>；(c) The mechanism of ONOO<sup>-</sup>-activated NIR afterglow theranostic prodrug<sup>[38]</sup>；(d) Mechanism of acoustic afterglow quenching in Q-SNAP<sup>[42]</sup>

### 3. 4 卟啉类化合物余辉材料在生物分析成像中的应用

2022 年，苏州大学 Miao 等人报告了包括基于二氢卟吩 e4 (Ce4) 的纳米颗粒，在生理条件下半衰期长达 90 分钟<sup>[43]</sup>（图 10a）。得益于超长的半衰期和最小化的成像背景，在 Ce4 注射前单次激活产生的余辉发光的引导下，成功切除了 3 mm<sup>3</sup> 的小转移瘤灶。近日，Miao 等人再次报道了一种新型且简便的 D<sub>2</sub>O 传感器，通过使用纳米颗粒（Ce4-NPs）的  $^1\text{O}_2$  相关余辉发光来实现 D<sub>2</sub>O 和 H<sub>2</sub>O 的区分检测<sup>[44]</sup>。主要原理是由于  $^1\text{O}_2$  在 D<sub>2</sub>O 中的寿命比 H<sub>2</sub>O 长 22 倍，且在激光照射后在 D<sub>2</sub>O 中生成更多的二氧杂环丁烷中间体，从而导致纳米颗粒（Ce4-NPs）在 D<sub>2</sub>O 中具有更强的余辉亮度（图 10b）。



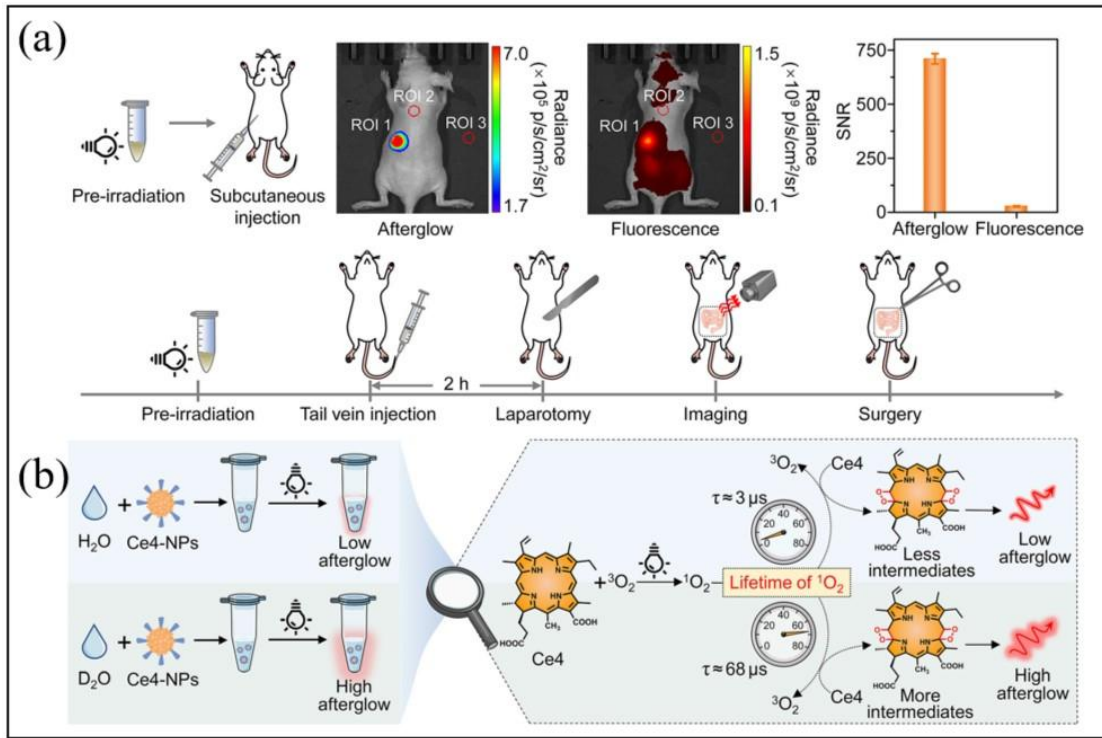


图 10 (a) 体内微小转移肿瘤的余辉成像<sup>[43]</sup>; (b) Ce4-NPs 在 H<sub>2</sub>O 和 D<sub>2</sub>O 中不同余辉亮度机理示意<sup>[44]</sup>  
 Fig. 10 (a) Afterglow imaging of tiny metastatic tumors in vivo together<sup>[43]</sup>; (b) Schematic Illustration of the Mechanism of Different Afterglow Brightness of Ce4-NPs in H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O<sup>[44]</sup>

### 3.5 1,4-二恶英或 1,4-恶硫磷类余辉材料在生物分析成像中的应用

2019 年, Pu 等人报道了一种使用 DO 和 SO 作为余辉基质来制备余辉成像探针的通用方法<sup>[30]</sup>。此后, 复旦大学 Li 等人也陆续报道了多种基于 SO 的余辉成像探针<sup>[26,45-50]</sup>。2021 年, Li 等人报道了一种具有强余辉强度和长寿命的光化学余辉植入剂, 用于栓塞和成像<sup>[46]</sup>。注射到小鼠腹主动脉中的液体预植入物在原位迅速转化成水凝胶以栓塞血管, 血管栓塞位置可通过固定植入物的增强余辉来观察, 余辉的长寿命也可用于监测栓塞的效果(图 11a)。此外, 2022 年同济大学 Zhang 等人报道了一种 AIE 染料的光引发余辉纳米探针(LiAGNP), 应用于侧流免疫分析测试条上, 用于诊断人类免疫缺陷病毒和严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 两种高度传染性疾病<sup>[51]</sup>。加载了聚集诱导发光染料(TTMN)和化学发光底物(SO)的探针 LiAGNP 在侧流免疫分析测试条中的灵敏度分别比目前使用的基于 Eu(III)的时间分辨荧光纳米颗粒和金纳米颗粒灵敏 2 倍和 32 倍(图 11b)。

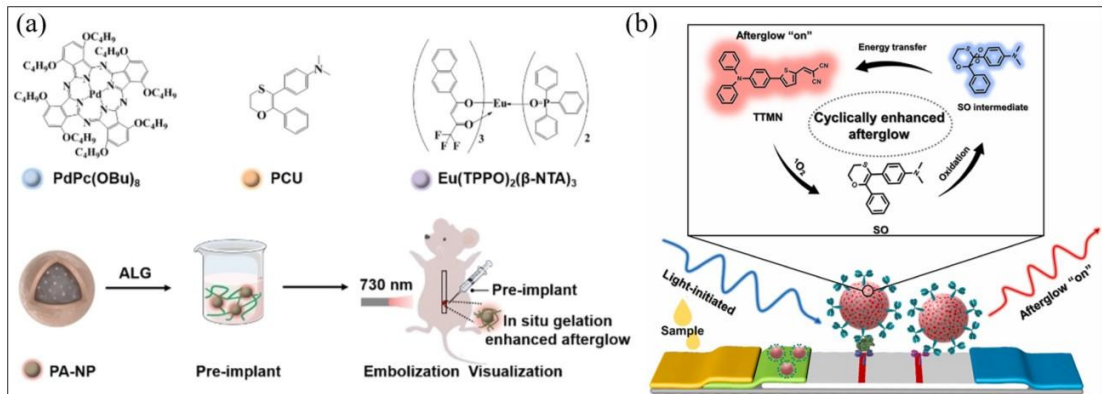


图 11 (a) 用于生物成像和动脉栓塞的水凝胶的制造和原位凝胶化示意图<sup>[46]</sup>; (b) 纳米探针 LiAGNP 的组成及检测机理<sup>[51]</sup>

Fig. 11 (a) Schematic illustration of the fabrication and in situ gelation of hydrogel for biological

imaging and arterial embolism<sup>[46]</sup>; (b) Composition and detection mechanism of nanoprobe LiAGNP<sup>[51]</sup>

### 3.6 荧光素类似物、红荧烯和半菁类似物余辉材料在生物分析成像中的应用

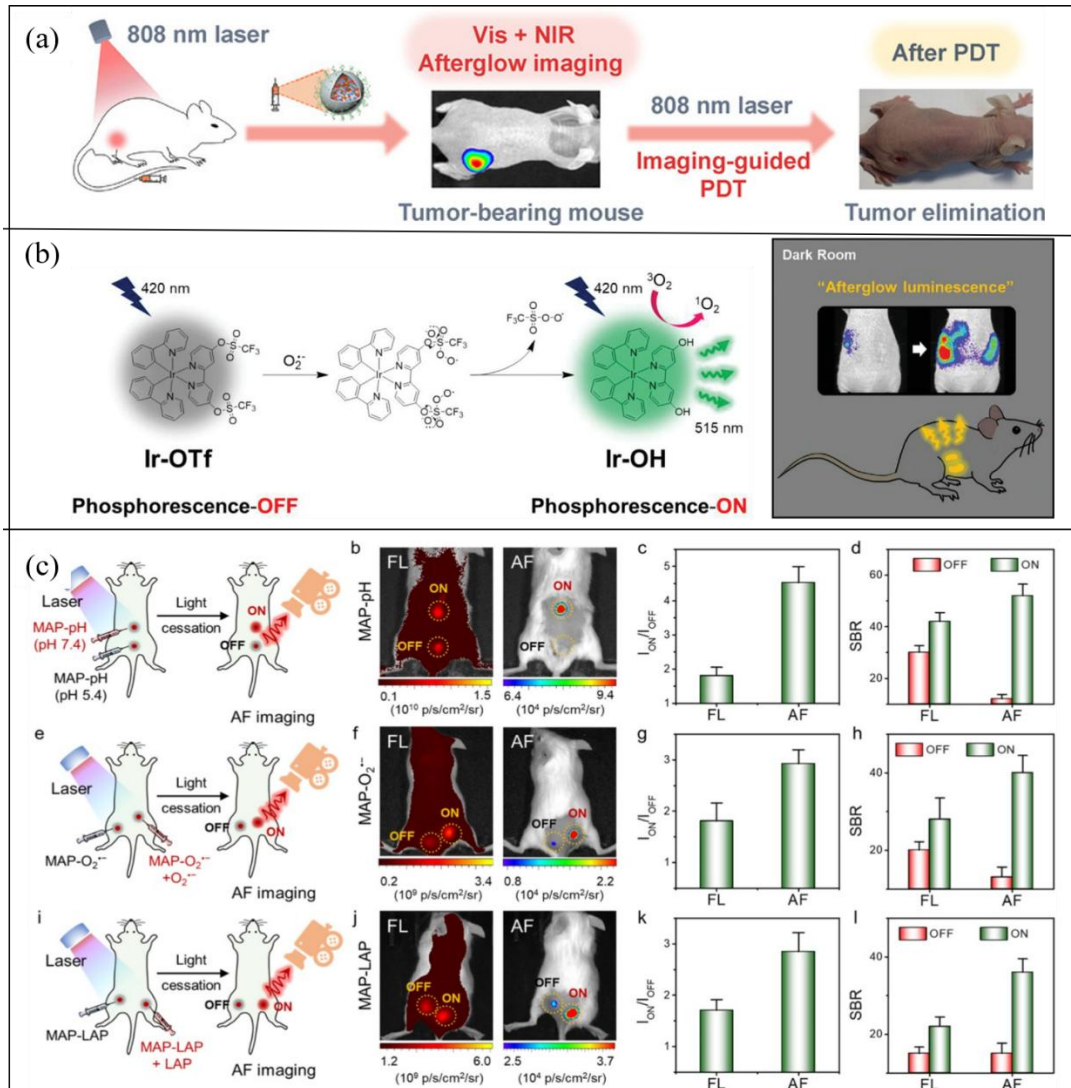


图 12 (a) 有机纳米粒子 ONP 的作用机理<sup>[52]</sup>; (b) Ir-OTf 的分子结构及其  $O_2^{\cdot-}$  余辉激活<sup>[53]</sup>; (c) 三种探针在体内高对比度余辉成像<sup>[54]</sup>

Fig. 12 (a) Action mechanism of organic nanoparticles ONP<sup>[52]</sup>; (b) Molecular structure of Ir-OTf and its phosphorescence activation by  $O_2^{\cdot-}$ <sup>[53]</sup>; (c) High contrast afterglow imaging of three probes in vivo<sup>[54]</sup>

2021 年, 清华大学 Tong 等人利用 CLA 作为余辉底物报道了一种具有持久发光和良好生物相容性的有机纳米粒子 (ONP), 用于余辉成像引导的光动力疗法<sup>[52]</sup>。利用近红外激光照射引导至肿瘤部位产生丰富的  $^1O_2$ , 有机纳米粒子 (ONP) 还能够进行成像引导的光动力治疗, 从而有效抑制小鼠的肿瘤生长 (图 12a)。

2022 年, 韩国科学技术研究所 Kim 等人利用红荧烯作为余辉底物报道了一种用于顺铂肾损伤超氧化物响应的余辉纳米传感器 (MANS)<sup>[53]</sup>。报道称余辉纳米传感器 (MANS) 被成功地应用于顺铂诱导的肾脏损伤的分子成像, 在没有自发荧光背景的小鼠模型中, 可激活的余辉信号响应于病理上过量产生的超氧化物 (图 12b)。

2023 年, 湖南大学 Zhang 等人基于半花菁结构支架, 设计合成了三种可激活分子余辉探针 (MAPs), 用于量化包括 pH、 $O_2^{\cdot-}$  和亮氨酸氨肽酶在内的三种分析物<sup>[29]</sup>。与以往包含多组分的余辉系统不同, MAPs 采用“四合一”分子设计, 将刺激响应单元、 $^1O_2$  发生单元、

---

$^1\text{O}_2$  捕获单元和发光单元集成到一个探针中。值得注意的是，MAPs 的余辉为氧化应激的连续发生和氨肽酶的上调提供了灵敏的成像，这有助于比血清学和组织学检查更早地识别药物引起的肝毒性（图 12c）。

## 4 总结与展望

余辉成像是一种新兴的技术，可以以高灵敏度和信号背景比可视化体内感兴趣的生物标志物。科研工作者努力通过有机余辉底物的结构修饰来优化余辉发射。此外，有机余辉底物还可以通过与光敏剂以及余辉中继单元结合，构建多组分余辉成像探针，来调节余辉强度、发光时间和发射波长，最终实现体内生物成像的目的。如今，有机余辉成像已广泛应用于许多临床前应用。尽管发展迅速，许多余辉成像探针的设计仍处于概念验证阶段，仍然面临诸多挑战。概括包括以下几点：（1）余辉成像过程中，需要外部光照射来诱发余辉。然而，由于光组织穿透最多不超过 3 mm，无法实现深层余辉成像。（2） $^1\text{O}_2$  目前是余辉成像过程中必不可少的物质，然而  $^1\text{O}_2$  生成不足和  $^1\text{O}_2$  传输效率低下，会大大降低余辉成像效果。（3）具有余辉强度高、近红外发射波长和持续时间长的有机余辉底物仍然有限。针对于以上问题，我们认为应该首先尝试开发多种模式诱导激活的余辉探针，例如超声诱导<sup>[54]</sup>或者 X 射线诱导等。其次，开发安全高效的光敏剂以保证  $^1\text{O}_2$  的生成效率，制备更小尺寸的纳米颗粒以促进  $^1\text{O}_2$  的传输效率以及组织渗透率，设计更加优异的近红外发射光敏剂或染料来增强余辉探针的强度、时间和波长。最后，可以在余辉探针的设计和开发中，将无机材料和有机材料结合起来，优势互补，开发出更灵敏、更均匀的多模式成像探针。总之，我们希望有机余辉材料在生物医学领域能够继续帮助人们更好的理解生物系统中的分子事件，早日实现临床转化。

## 参考文献

- [1]. James ML, Gambhir SS. A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications [J]. *Physiological reviews*, 2012, 92(2): 897-965.
- [2]. Hong GS, Antaris AL, Dai HJ. Near-infrared fluorophores for biomedical imaging [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1: 0010.
- [3]. Pu K, Shuhendler AJ, Jokerst JV, et al. Semiconducting polymer nanoparticles as photoacoustic molecular imaging probes in living mice [J]. *Nature Nanotechnology*, 2014, 9: 233-239.
- [4]. Wu YN, He Y, Han M, et al. Dual-miRNA-Propelled Three-Dimensional DNA Walker for Highly Specific and Rapid Discrimination of Breast Cancer Cell Subtypes in Clinical Tissue Samples [J]. *CCS Chemistry*, 2023, 5(7): 1561-1573.
- [5]. Weissleder R. Scaling down imaging: molecular mapping of cancer in mice [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2: 11-18.
- [6]. Cheng P, Pu K, Molecular imaging and disease theranostics with renal-clearable optical agents [J]. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6: 1095-1113.
- [7]. Yuan K, Meng HM, Wu Y, et al. Extracellular Milieu and Membrane Receptor Dual-Driven DNA Nanorobot for Accurate in Vivo Tumor Imaging [J]. *CCS Chemistry*, 2022, 4(5): 1579-1609.
- [8]. Wang SF, Li BH, Zhang F. Molecular fluorophores for deep-tissue bioimaging [J]. *ACS Central Science*, 2020, 6(8): 1302-1316.
- [9]. Li H, Kim Y, Jung H, et al. Near-infrared (NIR) fluorescence-emitting small organic



- 
- molecules for cancer imaging and therapy [J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(21): 8957-9008.
- [10]. Roth-Konforti M, Green O, Hupfeld M, et al. Ultrasensitive detection of salmonella and listeria monocytogenes by small-molecule chemiluminescence probes [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(30): 10361-10367.
- [11]. Shelef O, Sedgwick AC, Pozzi S, et al. Turn on chemiluminescence-based probes for monitoring tyrosinase activity in conjunction with biological thiols [J]. *Chemical Communications*, 2021, 57(86): 11386.
- [12]. Jiang Y, Pu K. Molecular probes for autofluorescence-free optical imaging [J]. *Chemical Reviews*, 2021, 121(21): 13086-13131.
- [13]. Yang M, Zeng Z, Lam JWY, et al. State-of-the-art self-luminescence: a win-win situation [J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(21): 8815-8831.
- [14]. Abdukayum A, Chen JT, Zhao Q, et al. Functional near infrared-emitting Cr<sup>3+</sup>/Pr<sup>3+</sup> co-doped zinc gallogermanate persistent luminescent nanoparticles with superlong afterglow for in vivo targeted bioimaging [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(38): 14125-14133.
- [15]. Maldiney T, Bessière A, Seguin J, et al. The in vivo activation of persistent nanophosphors for optical imaging of vascularization, tumours and grafted cells [J]. *Nature Materials*, 2014, 13: 418-426.
- [16]. Wang X, Pu K. Molecular substrates for the construction of afterglow imaging probes in disease diagnosis and treatment [J]. *Chemical Society Reviews*, 2023, 52(14): 4549-4566.
- [17]. Shen H, Liao S, Li Z, et al. Organic afterglow nanoparticles in bioapplications [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2023, 29(42): e202301209.
- [18]. Palner M, Pu K, Shao S, et al. Semiconducting polymer nanoparticles with persistent near-infrared luminescence for in vivo optical imaging [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 127(39): 11639-11642.
- [19]. Miao Q, Xie C, Zhen X, et al. Molecular afterglow imaging with bright, biodegradable polymer nanoparticles [J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35: 1102-1110.
- [20]. Isci R, Tekin E, Kaya K, et al. Tetraphenylethylene substituted thienothiophene and dithienothiophene derivatives: synthesis, optical properties and OLED applications [J]. *Journal of Materials Chemistry C*, 2020, 8(23): 7908-7915.
- [21]. Wang Y, Song G, Liao S, et al. Cyclic amplification of the afterglow luminescent nanoreporter enables the prediction of anti-cancer efficiency [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(36): 19779-19789.
- [22]. Schaap AP, Chen TS, Handley RS, et al. Chemical and enzymatic triggering of 1,2-dioxetanes. 2: fluoride-induced chemiluminescence from tert-butyldimethylsilyloxy-substituted dioxetanes [J]. *Tetrahedron Letters*, 1987, 28(11): 1155-1158.
- [23]. Macmanus-Spencer LA, Latch DE, Kroncke KM, et al. Stable Dioxetane Precursors as Selective Trap-and-Trigger Chemiluminescent Probes for Singlet Oxygen [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(4): 1200-1205.
- [24]. Ni X, Zhang X, Duan X, et al. Near-infrared afterglow luminescent aggregation-induced emission dots with ultrahigh tumor-to-liver signal ratio for promoted image-guided cancer

- 
- surgery [J]. *Nano Letters*, 2019, 19(1): 318-330.
- [25]. Duan X, Zhang GQ, Ji S, et al. Activatable persistent luminescence from porphyrin derivatives and supramolecular probes with imaging-modality transformable characteristics for improved biological applications [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(24): e202116174.
- [26]. Su X, Kong X, Sun K, et al. Enhanced blue afterglow through molecular fusion for bioapplications [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(27): e202201630.
- [27]. Yang J, Yin W, Van R, et al. Turn-on chemiluminescence probes and dualamplification of signal for detection of amyloid beta species in vivo [J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 4052.
- [28]. Ly JT, Lopez SA, Lin JB, et al. Oxidation of rubrene, and implications for device stability [J]. *Journal of Materials Chemistry C*, 2018, 6(14): 3757-3761.
- [29]. Liu Y, Teng L, Lou XF, et al. "Four-in-one" design of a hemicyanine-based modular scaffold for high-contrast activatable molecular afterglow imaging [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2023, 145(9): 5134-5144.
- [30]. Jiang Y, Huang J, Zhen X, et al. A generic approach towards afterglow luminescent nanoparticles for ultrasensitive in vivo imaging [J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 2064.
- [31]. Lyu Y, Cui D, Huang J, et al. Near-infrared afterglow semiconducting nano-polycomplexes for the multiplex differentiation of cancer exosomes [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(15): 4983-4987.
- [32]. Wu L, Ishigaki Y, Hu Y, et al. H<sub>2</sub>S-activatable near-infrared afterglow luminescent probes for sensitive molecular imaging in vivo [J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 446.
- [33]. Xu Y, Yang W, Yao D, et al. An aggregation-induced emission dye-powered afterglow luminogen for tumor imaging [J]. *Chemical Science*, 2020, 11(2): 419-428.
- [34]. Qu R, He D, Wu M, et al. Afterglow/photothermal bifunctional polymeric nanoparticles for precise postbreast-conserving surgery adjuvant therapy and early recurrence theranostic [J]. *Nano Letters*, 2023, 23(10): 4216-4225.
- [35]. Gu X, Guo Z, Yang X, et al. Single-component organic semiconducting polymer nanoparticles for near-infrared afterglow imaging [J]. *Dyes and Pigments*, 2023, 218: 111511.
- [36]. Liao S, Wang Y, Li Z, et al. A novel afterglow nanoreporter for monitoring cancer therapy [J]. *Theranostics*, 2022, 12(16): 6883-6897.
- [37]. He S, Xie C, Jiang Y, et al. An organic afterglow protheranostic nanoassembly [J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(32): 1902672.
- [38]. Gao Z, Jia S, Ou H, et al. An activatable near-infrared afterglow theranostic prodrug with self-sustainable magnification effect of immunogenic cell death [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(40): e202209793.
- [39]. Chen C, Gao H, Ou H, et al. Amplification of activated near-infrared afterglow luminescence by introducing twisted molecular geometry for understanding neutrophil-involved diseases [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, 144(8): 3429-3441.
- [40]. Liu J, Yuan H, Yang L, et al. Superlong afterglow reporter for the detection of porphyria in whole blood [J]. *Journal of Luminescence*, 2022, 243: 118612.
- [41]. Li J, Zhang GQ, Zhang Y, et al. Building highly light-harvesting near-infrared AIEgens using triazole-based luminescent core for improved intravital afterglow imaging [J]. *Advanced*

- 
- Functional Materials, 2023, 33(19): 2212380.
- [42]. Xu C, He S, Wei X, et al. Activatable sonoafterglow nanoprobe for T-cell imaging [J]. *Advanced Materials*, 2023, 35(30): 2211651.
- [43]. Chen W, Zhang Y, Li Q, et al. Near-infrared afterglow luminescence of chlorin nanoparticles for ultrasensitive in vivo imaging [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, 144(15): 6719-6726.
- [44]. Chen W, Jiang Y, Zhao M, et al.  $^1\text{O}_2$ -relevant afterglow luminescence of chlorin nanoparticles for discriminative detection and isotopic analysis of  $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{D}_2\text{O}$  [J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95(12): 5340-5345.
- [45]. Liu Y, Li Y, Wen Y, et al. Significantly enhanced afterglow brightness via intramolecular energy transfer [J]. *ACS Materials Letters*, 2021, 3(6): 713-720.
- [46]. Zhang F, Xu M, Su X, et al. Afterglow implant for arterial embolization and intraoperative imaging [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2022, 28(2): e202103795.
- [47]. Liu J, Yin J, Yuan H, et al.  $^1\text{O}_2$ -activatable  $\text{Eu}^{3+}$ -afterglow nanoprobe for highly sensitive detection of porphyria in whole blood [J]. *Journal of Rare Earths*, 2022, 40(9): 1382-1388.
- [48]. Wen Y, Zhang S, Yuan W, et al. Afterglow/fluorescence dual-emissive ratiometric oxygen probe for tumor hypoxia imaging [J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95(4): 2478-2486.
- [49]. Guo L, Sun Y, Su X, et al. Tunable afterglow system via controllable photoenergy storage and release [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2023, 15(24): 29321-29329.
- [50]. Kong X, Su X, Feng W, et al. Afterglow nanoparticles with 2,5,8,11-tetra-tert-butylperylene as blue emitter for background-free lateral flow immunoassay [J]. *Sensors and Actuators: B. Chemical*, 2023, 382: 133460.
- [51]. Hao L, Yang W, Xu Y, et al. Engineering light-initiated afterglow lateral flow immunoassay for infectious disease diagnostics [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 212: 114411.
- [52]. Zheng X, Wu W, Zheng Y, et al. Organic nanoparticles with persistent luminescence for in vivo afterglow imaging-guided photodynamic therapy [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2021, 27(23): 6911-6916.
- [53]. Anjong TF, Choi H, Yoo J, et al. Multifunction-harnessed afterglow nanosensor for molecular imaging of acute kidney injury in vivo [J]. *Small*, 2022, 18(22): 2200245.
- [54]. Xu C, Huang J, Jiang Y, et al. Nanoparticles with ultrasound-induced afterglow luminescence for tumour-specific theranostics [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2023, 7: 298-312.