

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, 13(4): 82-97.

Han C, Meng HM, Li ZH. Categories of organic afterglow materials and research progress in bioanalytical imaging [J]. Journal of Integration Technology, 2024, 13(4): 82-97.

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 孟红敏 李朝辉*

(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特性的光学材料, 可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。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成像中。此外, 余辉成像由于不需要实时激发光源, 因而可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, 作者综述了近年来有机余辉材料的最新进展, 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总结, 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 O482.31 文献标志码 A doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20231122001

Categories of Organic Afterglow Materials and Research Progress in Bioanalytical Imaging

HAN Chen MENG Hongmin LI Zhaohui*

(College of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

*Corresponding Author: 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 increasing imaging duration and sensitivity. Organic afterglow materials are commonly utilized in bioanalytical imaging 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, comprehensively summarizes the reported medical applications of these materials in bioanalytical

收稿日期: 2023-11-22 修回日期: 2023-12-23

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

作者简介: 韩晨, 博士研究生, 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; 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.

and afterglow imaging. Finally, the article discusses the prospects and challenges of using organic afterglow materials in molecular construction and clinical imaging.

Keywords organic afterglow materials; afterglow imaging; biosensing; tumor diagnosis and treatment

Funding This work is supported by National Natural Science Foundation of China (22374136, 22274143)

1 引言

分子成像技术中的体内生物光学成像技术具有无创性、高时空分辨率等优点, 已成为疾病诊断、治疗和监测的强有力工具^[1]。近几年, 体内生物光学成像技术(包括荧光成像、光声成像和余辉发光成像等)引起了广泛关注^[2-5]。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, 可在分子、微观和宏观水平上揭示生物过程^[6-7]。荧光成像技术因其成本低廉、操作简单、无创等优点而被广泛应用于生物医学研究和临床诊断中。然而, 由于荧光成像需要实时激发光源, 生物组织不可避免地产生光吸收、散射和自发荧光, 因此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, 影响体内成像的灵敏度^[8-9]。生物发光成像和化学发光成像虽然不需要实时激发光源, 但它们需要特定的酶或底物^[10-11]。相比之下, 近年来兴起的余辉成像技术是一种非常有前景的成像技术, 引起科研工作者的极大兴趣。余辉成像的原理是, 利用材料的化学缺陷位在外部光照射停止后持续发光一段时间的现象, 进行生物光学成像。一方面, 因无须外部光源照射, 避免了生物自发荧光的背景干扰; 另一方面, 余辉成像与体内的酶含量和分布无关, 因此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^[12-13]。

余辉材料通常分为无机余辉材料和有机余辉材料。目前, 基于重金属或稀土金属(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^[14-15]。然而, 由于潜在的重金属离子泄漏风险, 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受到很大的限制。相比之下, 有机余辉材料具有生物相容性较好和结构多样性等优点, 在光学成像领域显示出巨大的应用潜力。近年来, 大量具有余辉性质的半导体聚合物和小分子陆续被报道^[16], 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、1,4-二噻英(DO)、1,4-恶硫磷(SO)、Cypridina 荧光素类似物(CLA)、红荧烯、半菁类似物(HD)。并且, 研究者已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^[17]。

基于有机余辉材料在疾病诊断和治疗研究中的应用潜力, 本文首先对多种有机余辉底物的发光原理进行简单介绍, 并讨论不同类型的有机余辉材料在生物分析及余辉成像中的应用进展, 最后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简要的总结和讨论。

2 有机余辉底物的发光原理

有机余辉材料一般由余辉底物、余辉中继单

元和光敏剂组成,其发光机理如图1(a)所示。在外部光照射下,光敏剂由基态(S_0)激发后产生寿命为几纳秒的最低单重激发态(S_1),接着, S_1 通过系统间交叉(intersystem crossing, ISC)转变为高能三重态(T_1),光子能量转移到周围的氧中,产生单线态氧(1O_2)。随后,余辉基底与 1O_2 反应形成不稳定的中间体,该中间体可分解解释放热能,并通过化学反应引发电子交换直接发射光子。最后,中间体释放的能量继续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,则还可以进一步激发光敏剂,使余辉发射红移^[16]。此外,还有其他类型的基于有机材料的持续发光,如由非辐射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,它们的发光时间通常为毫秒级。

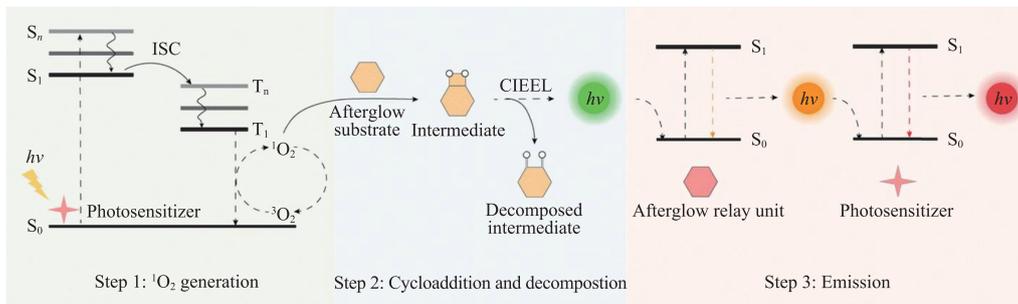
2.1 聚苯乙烯类余辉材料

PPV的核心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,由于具有不对称侧链,因此可溶于大多数有机溶剂。2015年,斯坦福大学的Palner等^[18]首次报道了

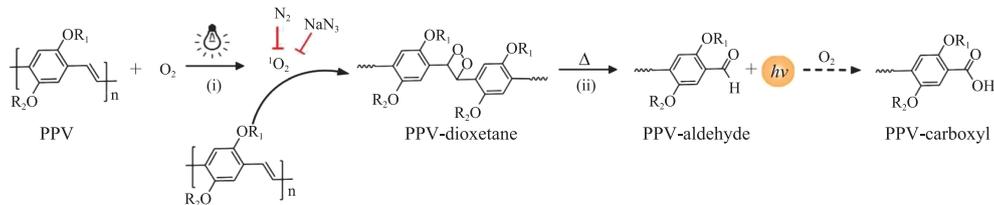
一种基于MEHPPV的纳米颗粒,单次激发下可产生持续1h的发光。这种新型持久发光纳米粒子已被证明可用于活体小鼠的光学成像。2017年,新加坡南洋理工大学的Miao等^[19]通过一系列实验发现,PPV中的苯乙烯是产生余辉性能的关键结构,还发现只有含有强供电子取代基的PPV才具有优良的余辉发光性能,而其他具有弱供电子或强吸电子取代基的衍生物则没有此现象。此外,Miao等^[19]还研究了PPV的余辉发光机理(图1(b))。PPV经过光照射产生 1O_2 ,通过 $\pi^2-\pi^2$ 环加成氧化亚乙烯基键(C=C)形成二氧杂环丁烷中间体。该中间体不稳定,可自发降解为PPV-醛,并产生光子。PPV-醛进一步氧化产生光照反应的最终产物PPV-羧基。

2.2 噻吩类余辉材料

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^[20]。2021年,湖南大学的Wang等^[21]报道了几种基于噻吩的半导体聚合物,它们能在生理条件下以半导体聚合物纳米粒子(SPNs)的形



(a) 有机材料的余辉产生机理^[16]



(b) 基于PPV的余辉发光机理^[19]

图1 有机材料和PPV的余辉机理

Fig. 1 Afterglow mechanism of organic materials and PPV

式发出余辉(图 2(b))。此外, Wang 等^[21]还对半导体聚合物聚芴-二噻吩基苯并噻二唑(PFODBT)的余辉发光机理进行了探究。噻吩基余辉材料的发光机理类似于 PPV, 即材料在光照下敏化氧气, 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 2(a))。

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^[22], 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, AEEs 可与 $^1\text{O}_2$ 反应形成某中间产物, 该中间产物在添加作为化学触发剂的氟化物后, 可发生化学发光分解, 发出明亮的可见光^[23]。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, 并自发产生电子激发态的苯甲酸酯, 苯甲酸酯在衰变至其基态期间发射余辉发光(图 3(a))。由于 AEEs 在光照下不会产生 $^1\text{O}_2$, 因此, 基于 AEEs 构建余辉材料时, 必须与光敏剂共存, 才能引发余辉^[24]。

卟啉是由 4 个吡咯亚基的 α -碳原子通过亚

甲基桥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, Duan 等^[25]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。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 min, 并且对过氧亚硝酸盐激活具有高选择性(图 3(b))。此外, 针对卟啉的持久发光现象, Duan 等^[25]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 3(c))。Duan 等^[25]还构建了具有 β 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。

2.4 1,4-二噻英或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, 可被 $^1\text{O}_2$ 氧化为 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在能量返回基态时, 可发出明亮的光^[16](图 4(a))。由于 DO 或 SO 不能产生 $^1\text{O}_2$, 因此

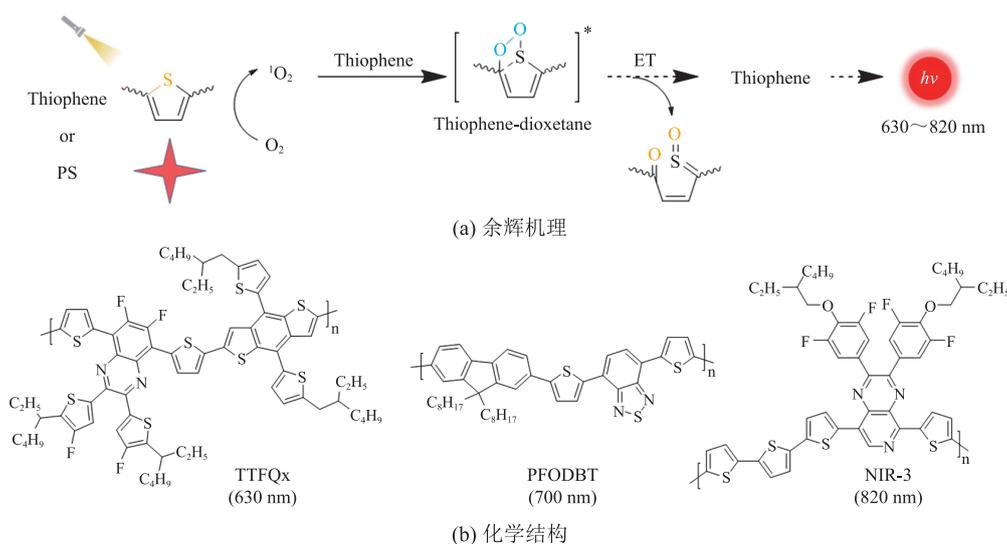


图 2 基于噻吩的余辉材料的余辉机理和化学结构^[16]

Fig. 2 Afterglow mechanism and chemical structure of thiophene-based afterglow materials^[16]

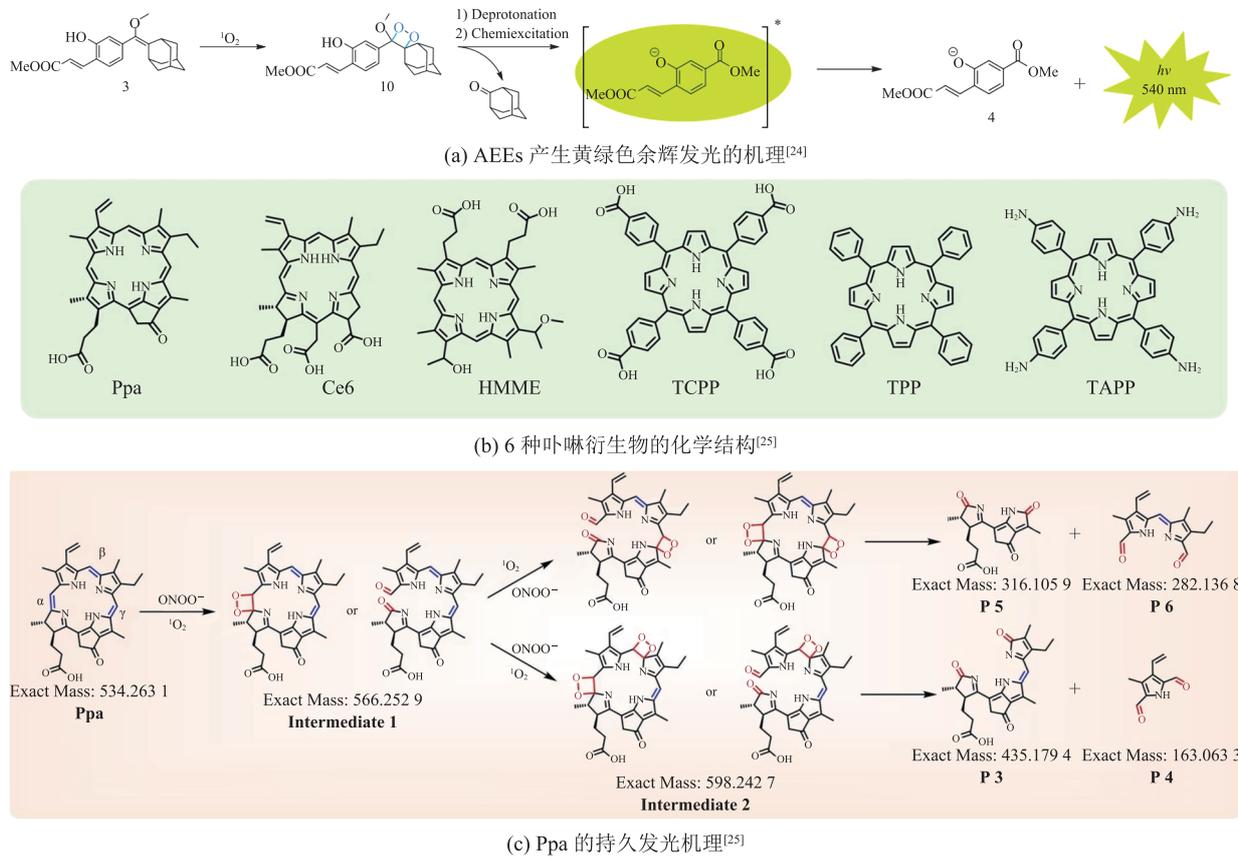


图3 AEEs 与 Ppa 余辉材料的余辉机理

Fig. 3 Afterglow mechanism of AEEs and Ppa afterglow materials

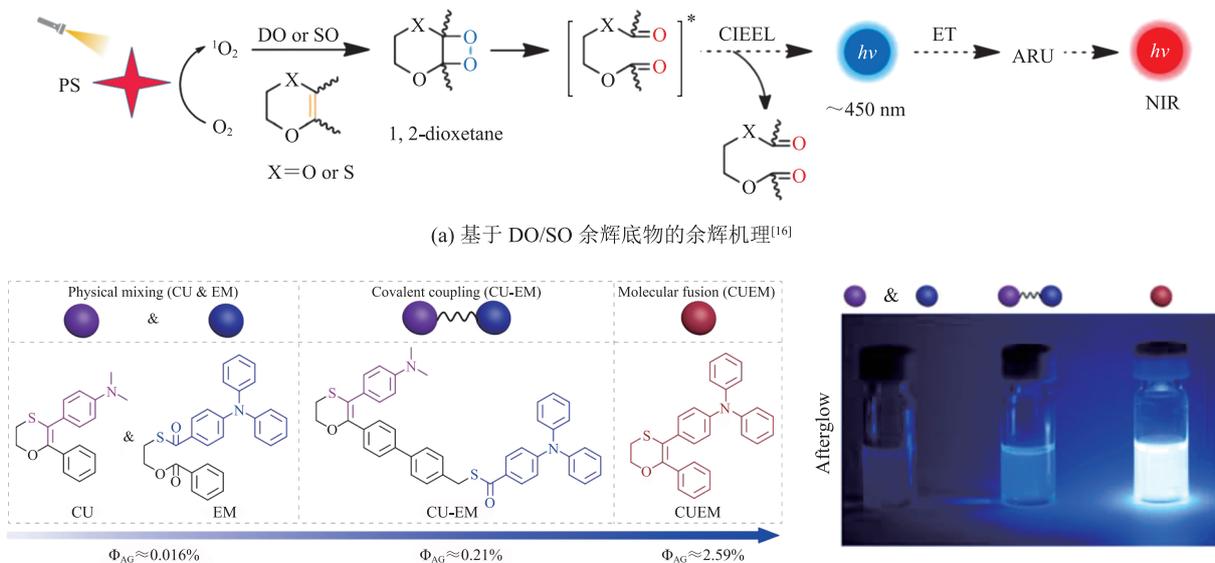
(b) 提高光化学体系余辉量子产率的策略和 CU、EM、CU-EM、CUEM 的化学结构^[26]

图4 DO/SO 余辉底物的余辉机理及优化策略

Fig. 4 Afterglow mechanism and optimization strategy of DO/SO afterglow substrates

需要与光敏剂共存。值得注意的是, Su 等^[26]于 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, 增强 SO 的 $^1\text{O}_2$ 反应性(图 4(b))。三苯胺基团还充当高效发光体, 以提高整体余辉亮度。与普通物理混合或共价耦合(CU-EM)相比, CUEM 可产生更亮、更持久的蓝色余辉。Su 等^[26]的研究为通过与供电子基团的分子融合优化 DO 和 SO 的余辉提供了思路。

2.5 荧光素类似物、红荧烯和半菁类似物余辉材料

CLA 常作为检测 $^1\text{O}_2$ 的发光化合物^[27]。CLA

可与 $^1\text{O}_2$ 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 5(a))。CLA 虽然可作为余辉底物, 但相关报道非常少, 这是因为其在溶液中的余辉强度不能让人满意。

红荧烯是一种发黄光的多环芳香烃, 先前的研究报道称, 红荧烯能经历快速光氧化, 并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, 因此可释放多余的能量, 以激发周围未反应的红荧烯, 并发出冷

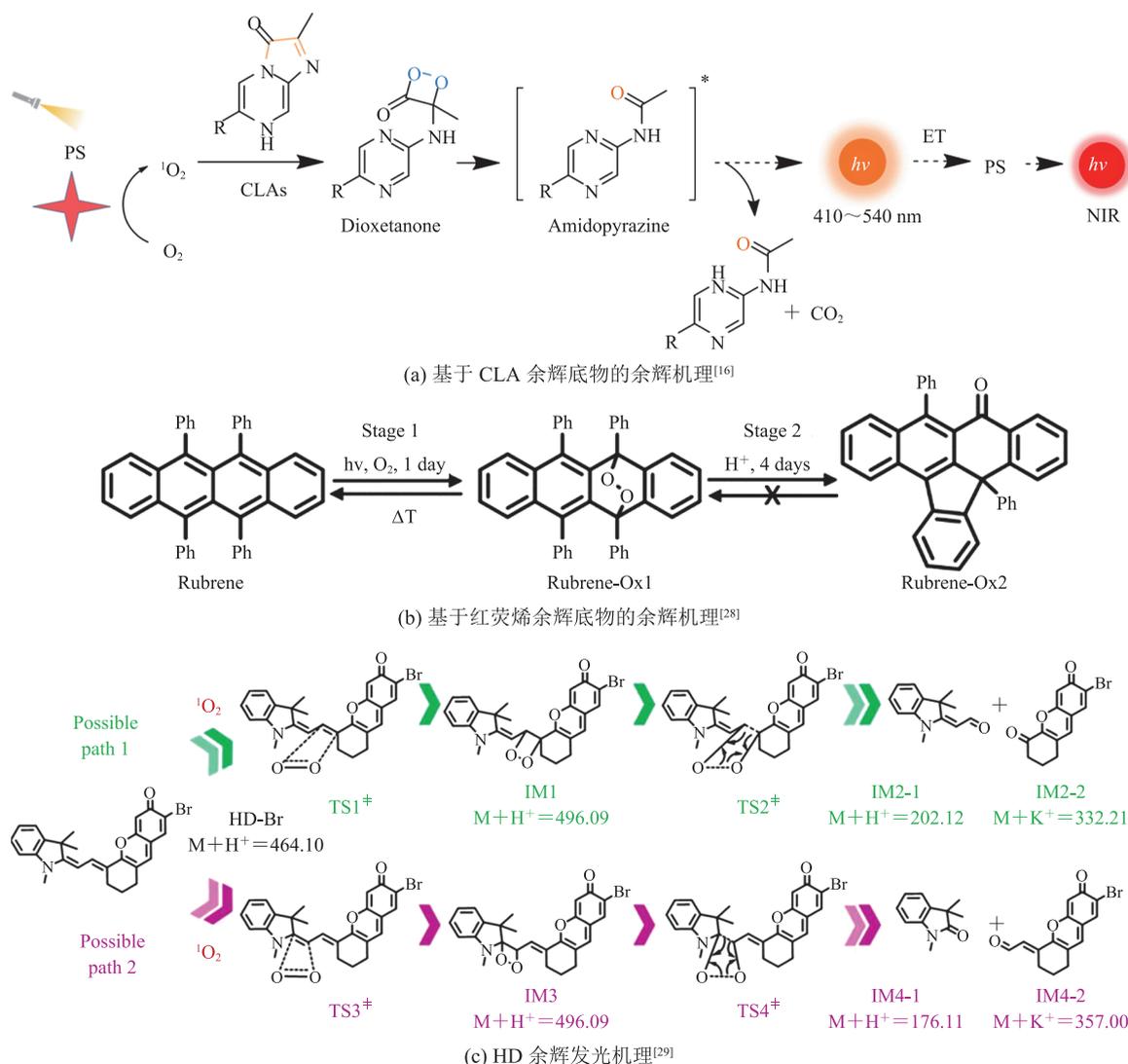


图 5 CLA、红荧烯和 HD 的余辉机理

Fig. 5 Afterglow mechanism of CLA, rubrene and HD

光^[28](图 5(b))。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, 且大多通过受体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, 湖南大学的 Liu 等^[29]通过引入重原子提高其生成单线态氧的能力, 开发了一系列基于半花菁的余辉小分子探针 HDs, 用于高对比度的余辉成像。该研究还详细描述了 HD 分子的余辉发光机制, 即 HD 分子将吸收的光能转移给氧气, 生成¹O₂, 随后,¹O₂ 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, 并伴随着光子的释放(图 5(c))。

3 有机余辉材料在生物分析成像中的应用

余辉材料的性能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能发射较长的波长, 并具有较高的亮度、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。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的 Miao 等^[19]开发了一种纳米余辉探针(SPN-thiol), 其仅在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(图 6(a)~(b))。2019年, Jiang 等^[30]提出了一种将普通荧光剂转化为

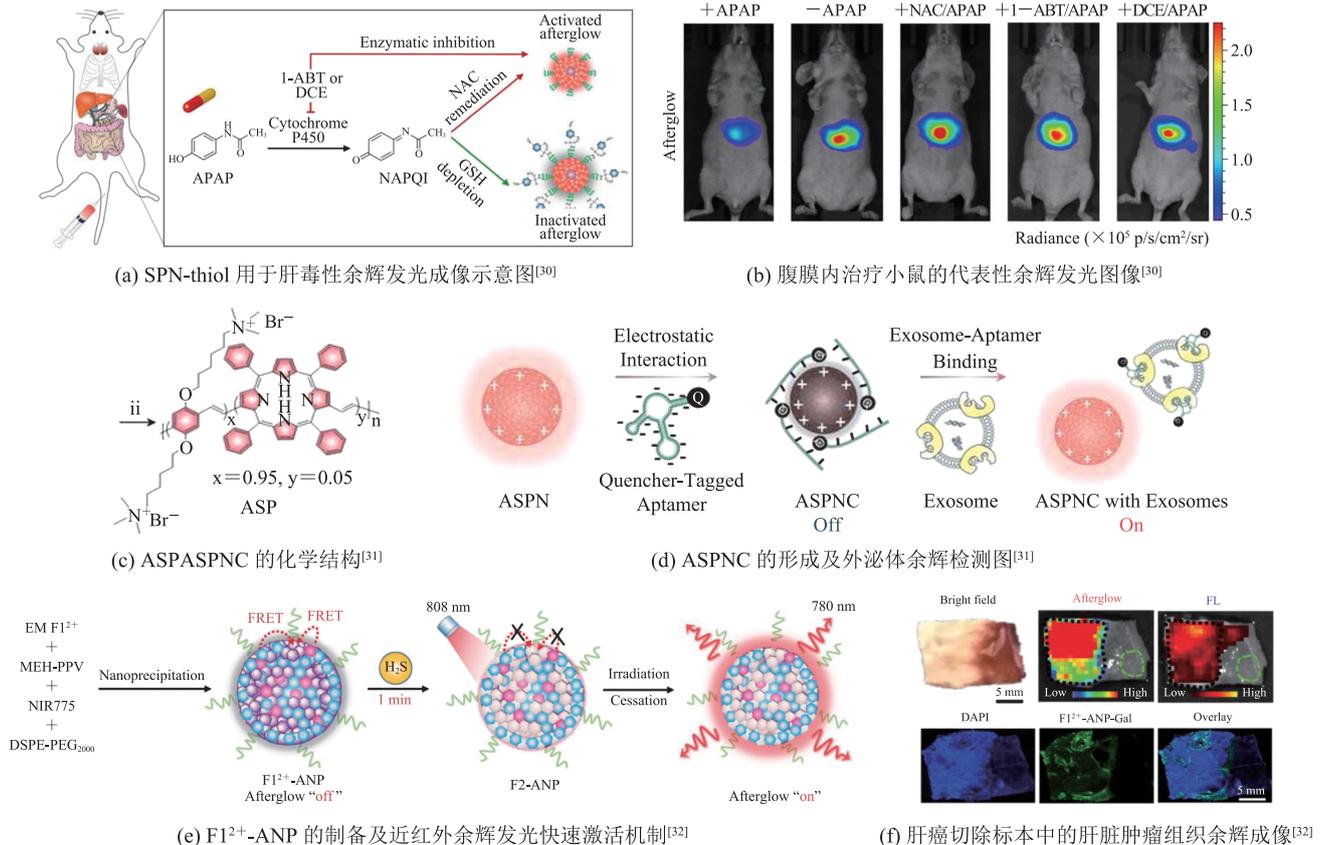


图 6 基于 PPV 的余辉材料在生物分析成像中的应用

Fig. 6 Application of afterglow materials based on PPV in bioanalytical imaging

余辉发光纳米颗粒(ALNP), 并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 3 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。同年, Lyu 等^[31]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, 并放大余辉信号, 进一步通过静电作用与猝灭剂结合构建纳米复合物(ASPNC), 用于癌症外泌体的特异性检测(图 6(c)~(d))。

2020 年, 南京大学的 Wu 等^[32]优化了一种有机电致变色材料(EM F1²⁺), 并将其集成到近红外光敏剂(NIR775)和 MEHPPV 中, 开发了一种 H₂S 激活的近红外余辉探针(F1²⁺-ANP)。该探针可特异性地测量健康人、肝癌或结肠癌患者血液中的 H₂S(图 6(e)), 且具有高灵敏度。该课题组进一步构建了一种肝肿瘤靶向和 H₂S 激活的余辉探针(F1²⁺-ANP-Gal)。引人注目的是, F1²⁺-ANP-Gal 可准确勾画出肝癌切除标本中的肿瘤边缘(图 6(f))。2020 年, 同济大学的 Xu 等^[33]报告了一种由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。其主要思路是利用聚集诱导发光(aggregation-induced emission, AIE)染料的独特性能规避浓度猝灭效应, 以增强余辉强度, 延长余辉持续时间。

2023 年, 南京大学的 Qu 等^[34]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, 并将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, 通过自组装制备余辉/光热双功能聚合物纳米颗粒(APPN), 用于保乳手术后的局部复发的早期诊断和治疗。上述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, Gu 等^[35]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 的侧链上合成的。此外, 与通过纳米沉淀制备的类似纳米探针相比, 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。

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, 湖南大学的 Wang 等^[21]报道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 7(a))。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 ¹O₂ 的双循环放大, 使余辉强度显著增强。余辉纳米颗粒(PFODBT@CPPO)产生的 ¹O₂ 会诱导癌细胞坏死, 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与免疫原性细胞死亡(ICD)相关的免疫反应(图 7(b))。2022 年, Liao 等^[36]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^[36]。新型余辉候选物(NIR-3)具有近红外余辉发射功能, 不需要多组分来红移发射波长。重要的是, 其自身产生的 ¹O₂ 不仅参与余辉发射过程, 而且能诱导有效的免疫原性细胞死亡, 可增强癌细胞的抗原性(图 7(c))。

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, 南开大学的 Ni 等^[24]设计并合成了具有 AIE 特性的近红外余辉发光纳米颗粒(AGL AIE dot)(图 8(a))。余辉纳米颗粒在单次激发停止后持续发出较高的近红外余辉, 持续时间超过 10 天, 且在正常组织(包括肝脏、脾脏和肾脏)

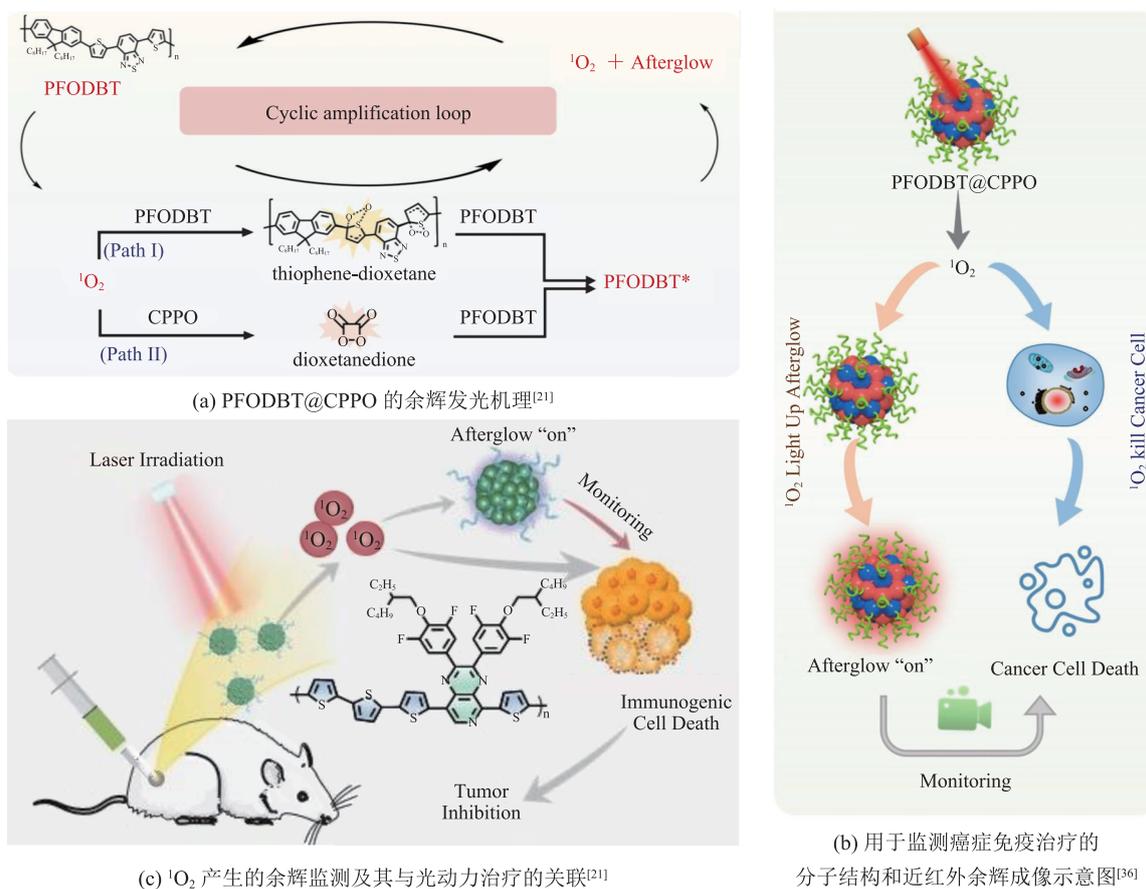


图 7 基于噻吩的半导体聚合物余辉材料在生物分析成像中的应用

Fig. 7 Application of thiophene-based semiconductor polymer afterglow materials in bioanalytical imaging

中具有快速猝灭余辉信号的特性，能精确引导癌症手术。同年，He 等^[37]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 (H_2O_2)，并特异性激活药效和诊断信号。纳米组件 (APtN) 包含两亲性大分子和近红外染料，分别充当 H_2O_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 8 (b))。

2022 年，Gao 等^[38]报告了一种可激活的近红外余辉治疗诊断前药，它可规避外部光激发引起的高背景噪声干扰。该前药可响应肿瘤内与 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 8 (c))。

同年，Chen 等^[39]报道了一种对 ONOO^- 和 pH 双重响应的余辉发光纳米探针。该纳米探针可灵敏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，并可快速准确地区分过敏和炎症，还可快速筛选能诱导免疫原性细胞死亡的抗肿瘤药物。2022 年，Liu 等^[40]同样利用 AEEs 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，用以实现卟啉症的简单快速检测。2023 年，Li 等^[41]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)。该纳米探针能通过余

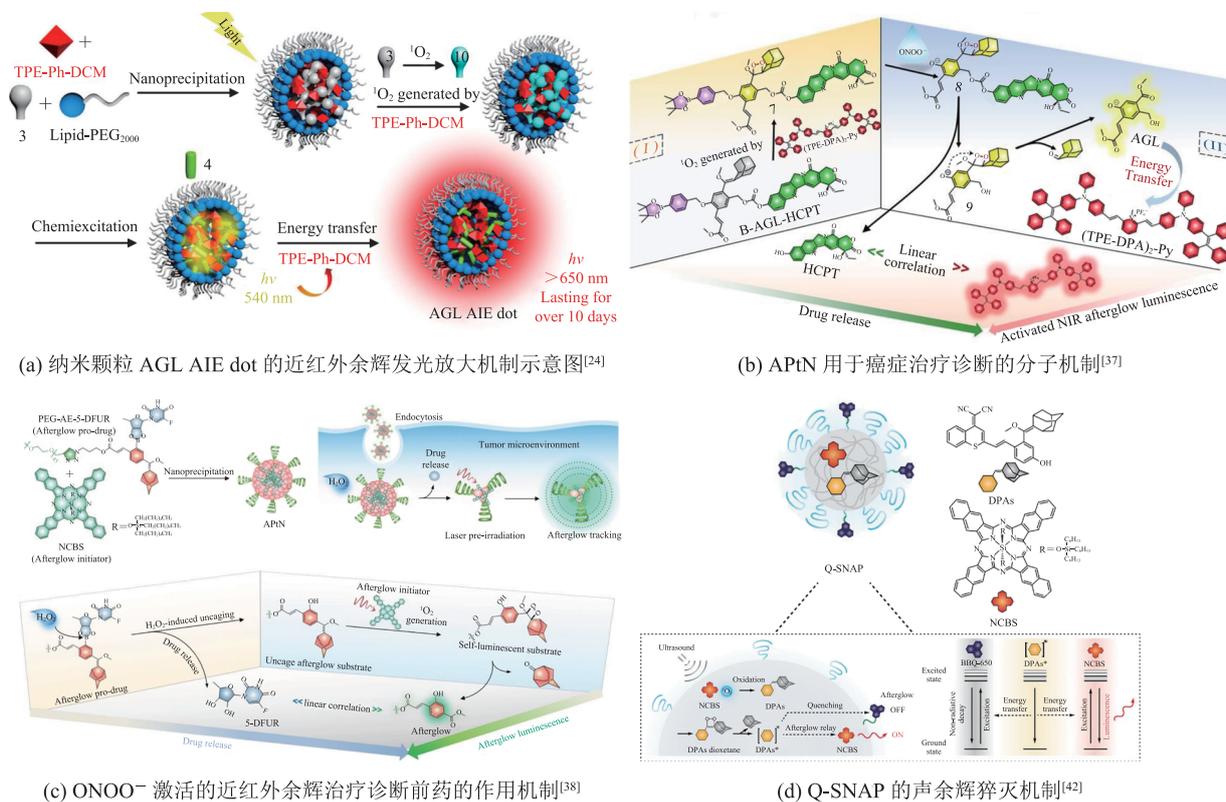


图 8 基于 AEEs 的余辉材料在生物分析成像中的应用

Fig. 8 Application of afterglow materials based on AEEs in bioanalytical imaging

辉成像引导手术切除肿瘤, 特别是小于 1 mm 的微小肿瘤。同年, Xu 等^[42]报道了一种可被颗粒酶 B 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可产生 $^1\text{O}_2$ 。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进一步控制余辉的开启。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 8(d))。

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, Chen 等^[43]报告了基于二氢卟吩 e4(Ce4)的纳米颗粒, 在生理条件下, 半衰期长

达 90 min(图 9(a))。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 mm³ 的小转移瘤灶。2023 年, Chen 等^[44]再次报道了一种新型且简便的 D₂O 传感器, 通过使用纳米颗粒(Ce4-NPs)的 $^1\text{O}_2$ 相关余辉发光, 实现 D₂O 和 H₂O 的区分检测。原理是 $^1\text{O}_2$ 在 D₂O 中的寿命比在 H₂O 中长 22 倍, 因此在激光照射后, 在 D₂O 中会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 D₂O 中具有更强的余辉亮度(图 9(b))。

3.5 1,4-二噁英或 1,4-恶硫磷类余辉材料在生物分析成像中的应用

2019 年, Jiang 等^[30]报道了一种使用 DO 和 SO 作为余辉基质制备余辉成像探针的通用方法。此后复旦大学的研究团队陆续报道了多种基于 SO 的余辉成像探针^[26,45-49]。2022 年, Zhang

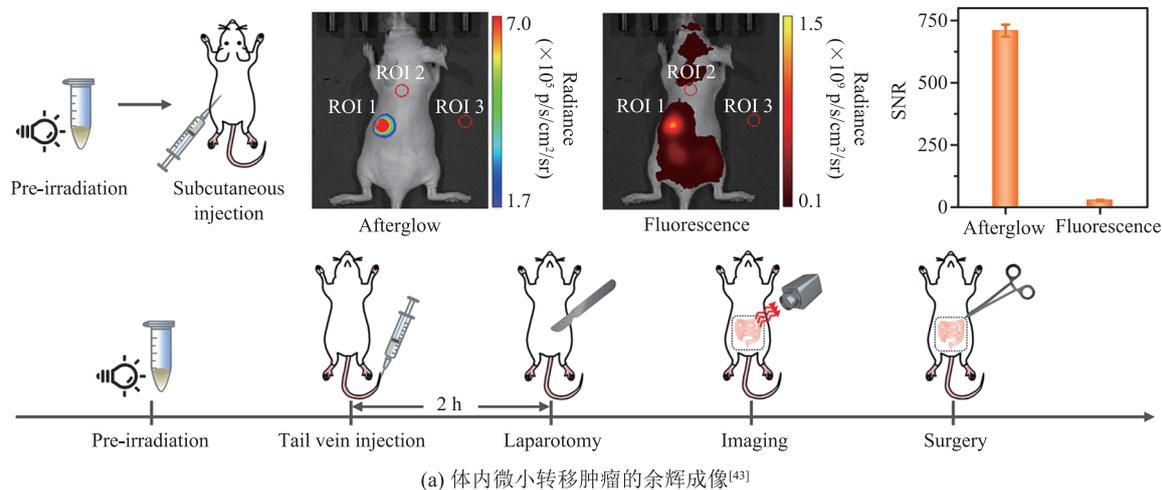
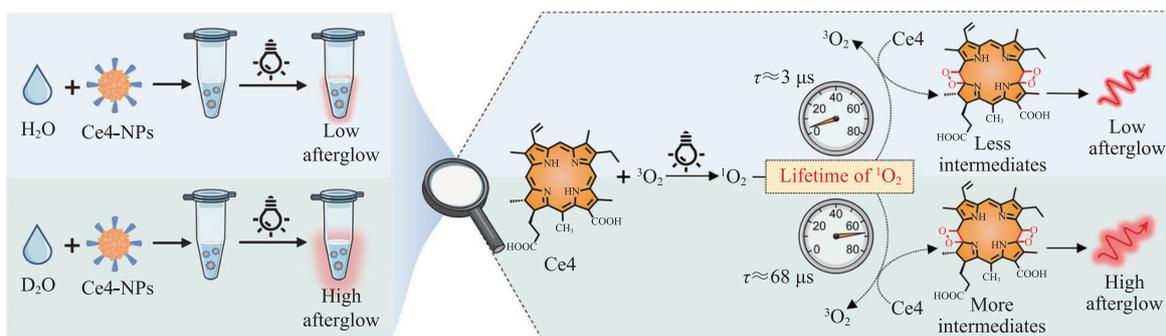
(a) 体内微小转移肿瘤的余辉成像^[43](b) Ce4-NPs 在 H₂O 和 D₂O 中的不同余辉亮度机理示意^[44]

图 9 基于卟啉的余辉材料在生物分析成像中的应用

Fig. 9 Application of porphyrin-based afterglow materials in bioanalytical imaging

等^[46]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。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观察，余辉的长寿命也可用于监测栓塞的效果(图 10(a))。此外，2022 年，Hao 等^[50]报道了一种 AIE 染料的光引发余辉纳米探针(LiAGNP)，用于侧流免疫分析测试条上，可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 等两种高度传染性病毒感染。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高 2 倍和 32 倍(图 10(b))。

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

2021 年，Zheng 等^[51]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。利用近红外激光照射肿瘤部位，使有机纳米粒子产生丰富的 ¹O₂，从而有效抑制小鼠的肿瘤生长(图 11(a))。

2022 年，Anjong 等^[52]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)。多功能铱配合物(Ir-OTf)作为单线态氧产生单元与红荧烯结合在一起，构建了纳米级余辉传感器。它在预激发终止后的一段时间内表现出超氧化物响应的可激活余辉发光。报道称，余辉纳米传感器被成功应用

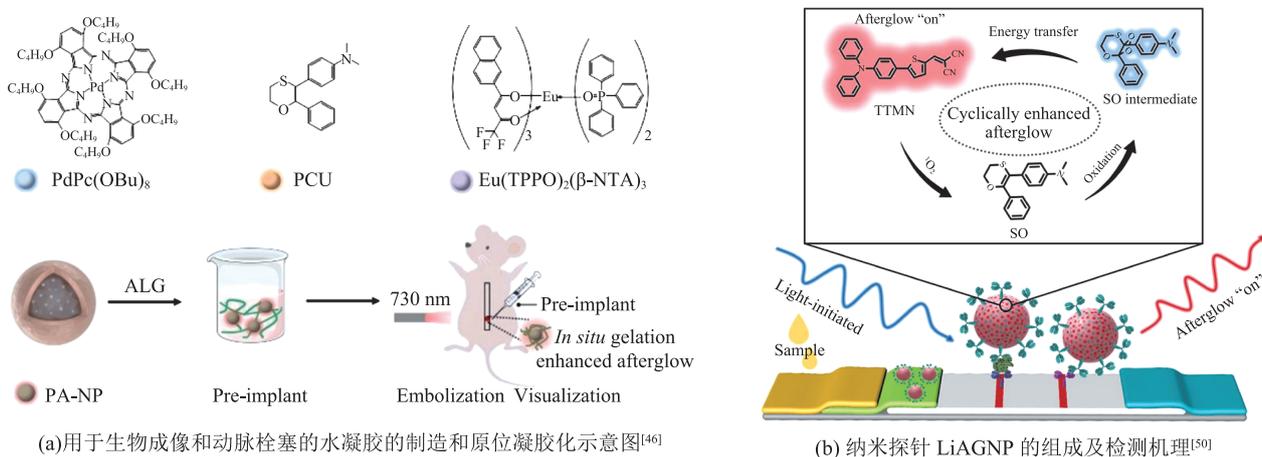


图 10 基于 SO 的余辉材料在生物分析成像中的应用

Fig. 10 Application of SO-based afterglow materials in bioanalytical imaging

于顺铂诱导的肾脏损伤分子成像, 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 11(b))。

2023 年, Liu 等^[29]基于半花菁结构支架, 设计合成了 3 种可激活分子余辉探针(MAPs), 用于量化生物体内 pH、超氧阴离子和亮氨酸氨肽酶等 3 种分析物。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、 $^1\text{O}_2$ 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 被应用于针对药物引起的肝毒性的余辉成像时, 可通过报告氧化应激的连续发生和氨肽酶的上调, 在血清学和组织学检查之前更早地识别肝毒性(图 11(c))。

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优化余辉发射。此外, 有机余辉底物还可通过与光敏剂及余辉中继单元结合, 构建多组分余辉成像探针, 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, 但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, 主要包括以下几点。(1) 在余辉成像过程中, 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, 因此无法实现深层余辉成像。(2) 目前, $^1\text{O}_2$ 是余辉成像过程中必不可少的物质, 因此, $^1\text{O}_2$ 生成不足和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。针对以上问题, 笔者认为应该首先尝试开发多种模式诱导激活的余辉探针, 如超声诱导^[53]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, 并制备更小尺寸的纳米颗粒, 以促进 $^1\text{O}_2$ 的传输效率及组织渗透率。通过设计更加优异的近红外发射光敏剂或染料增强余辉探针的强度、时间和波长。最后, 在余辉探针的设计和开发中, 可将无机材料和有机材料结合起来, 形成优势互补, 开发出更灵敏、更均匀的多模式成像探针。总之, 希望有机余辉材料在生物医学领域能继续帮助人们更好地理解生物系统中的分子事件, 早日实现临床转化。

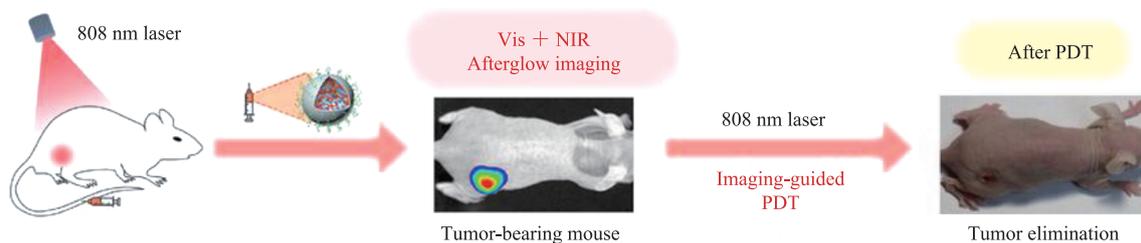
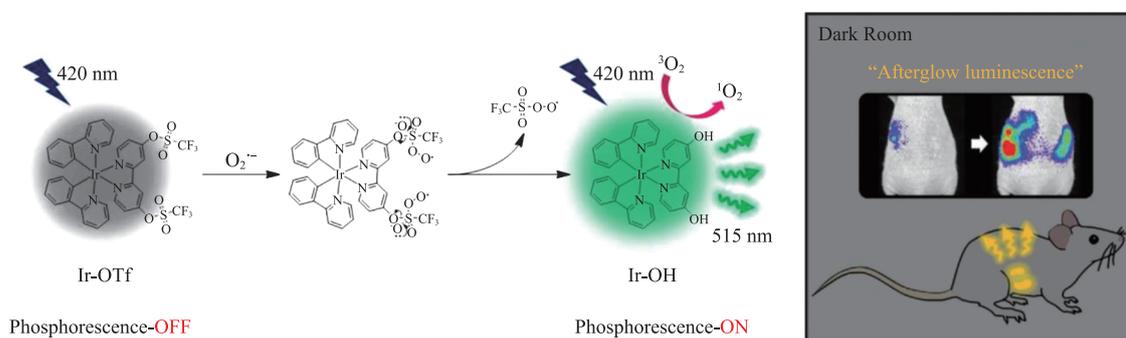
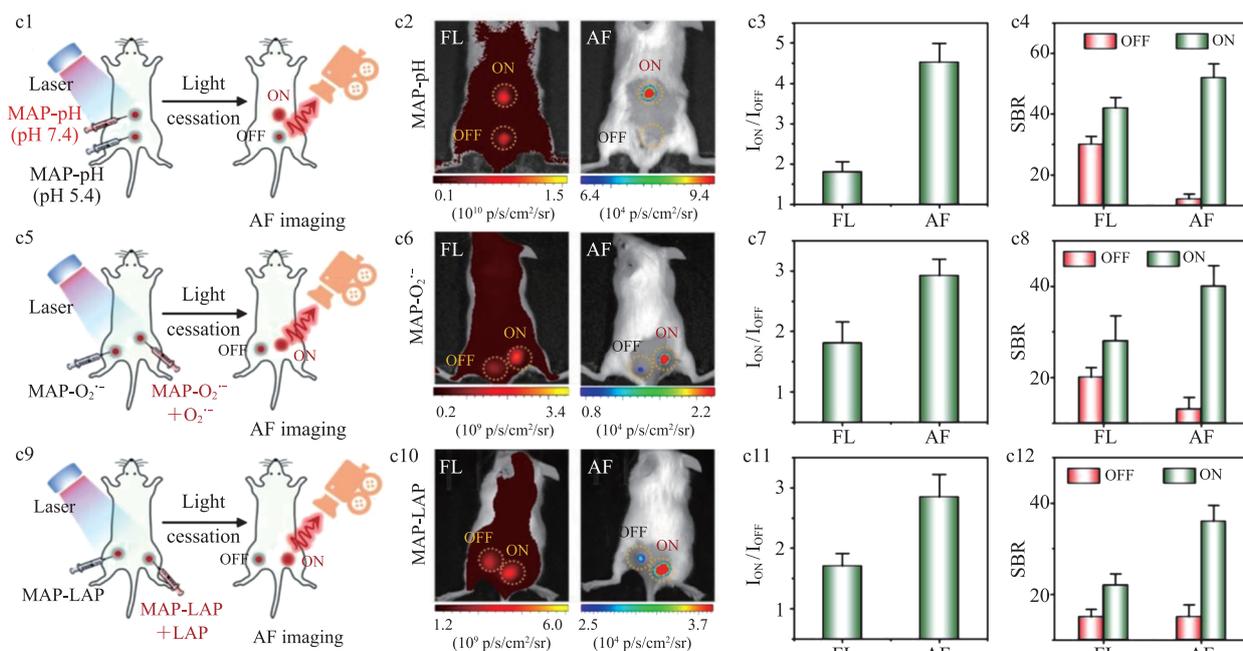
(a) 有机纳米粒子 ONP 的作用机理^[51](b) 多功能铱配合物 (Ir-OTf) 的分子结构及其 O_2^- 余辉激活^[52](c) 3 种探针在体内高对比度余辉成像^[53]

图 11 基于 CLA、红荧烯和 HD 的余辉材料在生物分析成像中的应用

Fig. 11 Application of afterglow materials based on CLA, rubrene and HD in bioanalytical imaging

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(1): 0010.
- [3] Pu KY, Shuhendler AJ, Jokerst JV, et al. Semiconducting polymer nanoparticles as photoacoustic molecular imaging probes in living mice [J]. *Nature Nanotechnology*, 2014, 9(3): 233-239.
- [4] Wu YN, He YT, Han MM, 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(1): 11-18.
- [6] Cheng PH, Pu KY. Molecular imaging and disease theranostics with renal-clearable optical agents [J]. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6(12): 1095-1113.
- [7] Yuan K, Meng HM, Wu YN, 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): 11386-11389.
- [12] Jiang YY, Pu KY. Molecular probes for autofluorescence-free optical imaging [J]. *Chemical Reviews*, 2021, 121(21): 13086-13131.
- [13] Yang MW, Zeng ZL, Lam JWY, et al. State-of-the-art self-luminescence: a win-win situation [J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(21): 8815-8831.
- [14] Abdulkayum A, Chen JT, Zhao Q, et al. Functional near infrared-emitting Cr³⁺/Pr³⁺ 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(4): 418-426.
- [16] Wang XZ, Pu KY. 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 HX, Liao SY, Li Z, et al. Organic afterglow nanoparticles in bioapplications [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2023, 29(42): e202301209.
- [18] Palner M, Pu KY, 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 QQ, Xie C, Zhen X, et al. Molecular afterglow imaging with bright, biodegradable polymer nanoparticles [J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(11): 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 YJ, Song GS, Liao SY, 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-butyl dimethylsilyloxy-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 XY, Duan XC, 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 XC, Zhang GQ, Ji SL, 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 XL, Kong XY, Sun KS, et al. Enhanced blue afterglow through molecular fusion for bio-applications [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(27): e202201630.
- [27] Yang J, Yin W, Van R, et al. Turn-on chemiluminescence probes and dual-amplification of signal for detection of amyloid beta species *in vivo* [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 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 YC, Teng LL, 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 YY, Huang JG, Zhen X, et al. A generic approach towards afterglow luminescent nanoparticles for ultrasensitive *in vivo* imaging [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 2064.
- [31] Lyu Y, Cui D, Huang JG, 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 LY, Ishigaki Y, Hu YX, et al. H₂S-activatable near-infrared afterglow luminescent probes for sensitive molecular imaging *in vivo* [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 446.
- [33] Xu Y, Yang WT, Yao DF, 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 DD, 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 XX, Guo ZX, Yang XQ, et al. Single-component organic semiconducting polymer nanoparticles for near-infrared afterglow imaging [J]. *Dyes and Pigments*, 2023, 218: 111511.
- [36] Liao SY, Wang YJ, Li Z, et al. A novel afterglow nanoreporter for monitoring cancer therapy [J]. *Theranostics*, 2022, 12(16): 6883-6897.
- [37] He SS, Xie C, Jiang YY, et al. An organic afterglow protheranostic nanoassembly [J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(32): 1902672.
- [38] Gao ZY, Jia SR, Ou HL, 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 HQ, Ou HL, 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 JS, Zhang GQ, Zhang YF, 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 SS, 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 H_2O and D_2O [J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95(12): 5340-5345.
- [45] Liu YW, Li YZ, Wen Y, et al. Significantly enhanced afterglow brightness via intramolecular energy transfer [J]. *ACS Materials Letters*, 2021, 3(6): 713-720.
- [46] Zhang FY, Xu M, Su XL, et al. Afterglow implant for arterial embolization and intraoperative imaging [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2022, 28(2): e202103795.
- [47] Liu J, Yin JM, Yuan H, et al. $^1\text{O}_2$ -activatable 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 SD, 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 LN, Sun YS, Su XL, et al. Tunable afterglow system via controllable photoenergy storage and release [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2023, 15(24): 29321-29329.
- [50] Hao LW, Yang WT, Xu Y, et al. Engineering light-initiated afterglow lateral flow immunoassay for infectious disease diagnostics [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 212: 114411.
- [51] Zheng XK, Wu WB, 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.
- [52] 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.
- [53] Xu C, Huang JS, Jiang YY, et al. Nanoparticles with ultrasound-induced afterglow luminescence for tumour-specific theranostics [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2023, 7(3): 298-312.