近红外二区的双三苯胺共轭半菁染料光热转换性能及抗肿瘤效应研究*

杨志刚[1†]，张子艳[1]，张仕青[1]，吴相华[2]，吴张月[1]，邹怡[1]，黄志辉[1]，连加荣[1]，张俊峰[2]

（1 深圳大学光电子器件与系统广东省教育部重点实验室物理与光电工程学院，深圳 518060）

（2 云南师范大学化学化工学院，昆明 650500）

摘要:

近红外二区有机小分子光热剂具有结构明确、光谱可调和生物应用适配性好的特点，但如何在同一实验体系中建立分子结构、光谱响应、光热转换效率和生物效应之间的关联，仍是小分子光热剂研究中的重要问题。本文研制了一种近红外二区双三苯胺共轭半菁染料 ZZ，并围绕其分子设计、稳态光谱、光热转换性能及抗肿瘤效应开展系统性研究。ZZ 由三苯胺给电子单元和扩展半菁共轭结构组成，表现出深近红外吸收峰约位于 850 nm，发射覆盖 950-1300 nm。在 100 μM DMSO 体系中，808 nm 激光照射下最大升温幅度为 19.5 ℃，光热转换效率为 76.1%，显著优于商用对比试剂吲哚菁绿（ICG）；ZZ 在激光循环照射中保持良好的热稳定性，在琼脂糖凝胶及 4T1 细胞等复杂介质模型中表现出光热积累效应和细胞杀伤能力。4T1 荷瘤小鼠实验表明，瘤内注射 ZZ 后在激光照射下形成局部热场，显著抑制实体肿瘤生长，具有肿瘤治疗潜在性；体重曲线和主要脏器 H&E 染色表明 ZZ 在本研究给药条件下具有较好生物相容性。结果说明，所研制的新型近红外二区小分子光热剂 ZZ，具有高效的二区近红外光热转换效率，在实体瘤内产生稳定热输出，具有潜在的肿瘤治疗价值，为小分子光热剂优化及纳米递送体系构建提供理论基础。

录用稿件，非最终出版稿

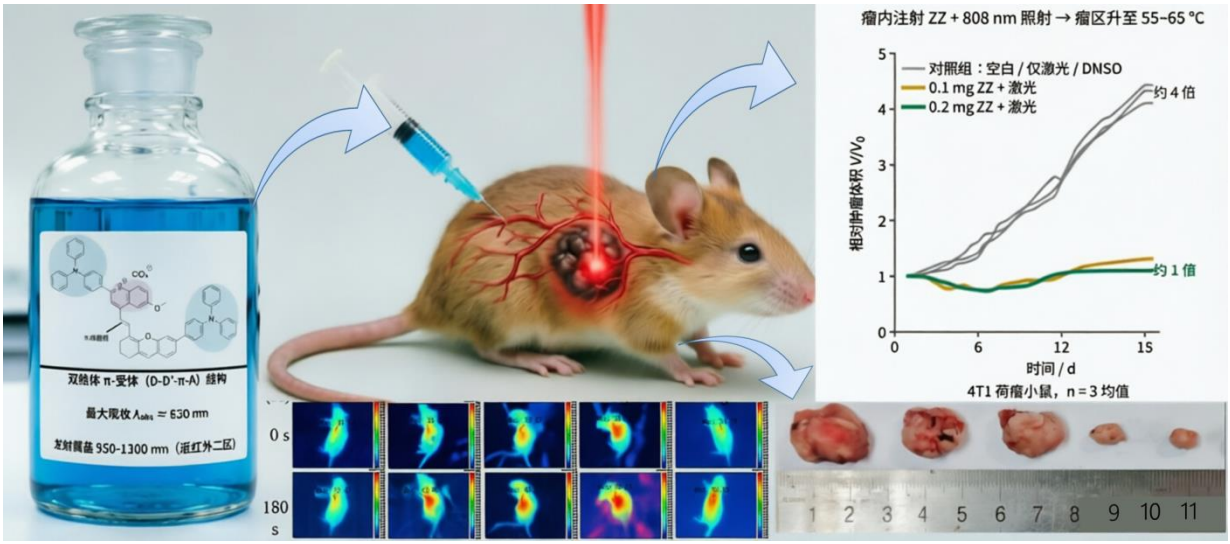


图 1 双三苯胺共轭半菁染料 ZZ 的分子设计及其近红外二区光热抗肿瘤应用示意图。

Fig. 1 Schematic illustration of the molecular design and NIR-II photothermal antitumor application of the bis(triphenylamine)-conjugated hemicyanine dye ZZ.

关键词：半菁染料；近红外二区发射；光热转换；808 nm 激发；抗肿瘤效应

PACS：87.85.Pq，87.64.M-，87.64.Kv

基金：国家重点研发计划“前沿生物技术”重点专项（课题号：2023YFC3402903）、广东省自然科学基金面上项目（批准号：2026A1515011379）和深圳市科技创新项目（批准号：20231120175730001）资助的课题。

† 通信作者：杨志刚，E-mail: zhgyang@szu.edu.cn

1 引言

肿瘤光热治疗（photothermal therapy, PTT）利用光热剂将外部光能转化为局部热能，在肿瘤区域产生空间可控的热损伤，可用于局部治疗及成像引导治疗研究[1]。有机分子光热剂结构可设计、光谱可调，便于在分子层面优化近红外光热响应[2]。刺激响应型分子光热剂还可将热效应与成像反馈或肿瘤微环境识别相结合，从而辅助判断治疗区域、照射时机和作用边界[3]。近红外二区（second near-infrared window, NIR-II, 1000 – 1700 nm）具有较低的组织散射和较弱的自发荧光背景，可提高深部组织成像的信噪比[4,5]。NIR-II 荧光分子探针的发展，使长波成像、光声反馈与光热治疗之间形成更紧密的诊疗联系[6,7]。因此，评价 NIR-II 诊疗材料时，除升温结果外，还应综合考察光谱响应、光热转换效率、

录用稿件，非最终出版稿

光稳定性和生物效应[8,9]。

现有 NIR-II 光热体系包括金属纳米材料、半导体量子点、共轭聚合物和有机小分子等类型，无机或聚合物材料在长波吸收、多模态成像和热治疗中已表现出显著优势，但材料核心、表面配体、粒径和载体组成均对其体内行为具有影响[6]。有机小分子光热剂的分子结构明确，便于通过给受体强度、共轭长度和取代基效应建立结构-光谱-光热性能之间的联系[9]。七甲川菁染料是近红外肿瘤成像和光治疗中常用的分子平台，高摩尔消光系数和可调多甲川链为深近红外吸收提供了基础[10,11]。围绕七甲川菁骨架的综述显示，靶向修饰、纳米化和功能化策略已将其应用拓展到肿瘤成像、光动力治疗（photodynamic therapy, PDT）和 PTT 等场景[12]。NIR-II 激活型小分子探针和给体-受体（donor-acceptor, D-A）型发色团的研究，也为半菁染料的受体拓展、给体引入和长波响应调控提供了分子设计参照[13,14]。

菁、半菁和方酸菁染料体系的光热性能并非只由吸收峰位置决定，聚集状态、分子内电荷转移和非辐射耗散途径都影响其光热性能[15,16]。抗聚集型七甲川菁染料的水溶性、立体位阻和离子作用会影响 NIR-II 成像亮度与光热输出[17]。多功能分子染料则显示，给受体结构和纳米化处理可以同时支持 NIR-II 荧光、光声成像和光热治疗[18]。方酸菁体系中，分子间氢键可增强非辐射衰减并提高 NIR-II 光热转换效率，说明分子间作用也是调控热产生的重要变量[19]。含三苯胺等给电子单元的 NIR-II 有机小分子的给体与受体片段的耦合会影响长波吸收和光热响应[20]。以苯并双噻二唑（benzobisthiadiazole, BBT）等强受体构筑的给体-受体-给体（donor-acceptor-donor, D-A-D）分子进一步展示了长波吸收、NIR-II 发射和肿瘤诊疗之间的结构设计逻辑[21]。从光物理机制看，D-A 分子中的电荷转移强度、构象变化和分子内运动会改变辐射与非辐射衰减的分配[22,23]。在生物应用层面，细胞器定位和刺激响应可改变光热剂在细胞内的有效作用位置[24,25]。蛋白结合以及给药/代谢调控也会影响其肿瘤富集、热输出和治疗选择性[26,27]。

现有研究仍有诸多不足，限制了小分子光热剂的设计与性能研究。无机或聚合物纳米体系的热响应常受核心材料、粒径、表面配体和载体结构共同影响，单一结构因素与热输出之间的关系不易被拆解[28,29]。部分体系需要复杂组装或多组分协同才能获得较高升温效果，批次重复性和后续转化评价难度随之增加[30]。纳米载体和仿生递送策略可以改善富集和稳定性，但体内分布、代谢清除和长期安全性仍需逐层验证[31,32]。有机小分子

录用稿件，非最终出版稿

虽然更适合结构解析，却需要处理长波发射与高效光热转换之间的能量竞争：增强辐射跃迁有利于成像，提高非辐射衰减更有利于热产生[33,34]。过度延长共轭或诱导聚集可能带来吸收红移，也可能造成荧光淬灭、光漂白、水相分散性下降或生物介质中热输出不稳定[35]。部分研究更重视抑瘤效果，对分子结构、稳态光谱、光热转换效率（photothermal conversion efficiency, PCE）、循环稳定性、细胞响应和体内热场之间的系统性研究不足[36,37]。七甲川菁骨架上的取代基变化也会改变光声和光热响应，说明小分子结构细节仍值得在统一实验条件下单独分析[38]。

基于上述问题，本文以双三苯胺共轭半菁染料 ZZ 为研究对象，在统一实验条件下评价其分子结构、稳态光谱、直接光热响应及活体抗肿瘤效应。ZZ 中三苯胺给电子单元与扩展半菁受体片段构成双给体-π桥-受体（double donor-π-acceptor, D-D′-π-A）型共轭骨架，该设计旨在获得深近红外吸收，并使发射跨越 950–1300 nm、延伸至 NIR-II 区域。本文采用升温—冷却能量平衡模型计算光热转换效率[39]；吲哚菁绿（indocyanine green, ICG）在相同溶剂、相同 808 nm 处吸光度（A_{808}）和相同激光条件下作为对照，以减少吸光度及测试条件差异造成的偏倚[40]。在此基础上，本文通过光照循环、琼脂糖凝胶、4T1 小鼠乳腺癌细胞和 4T1 荷瘤小鼠模型，考察 ZZ 的热输出能否从均一溶液延伸至复杂介质、细胞损伤和体内局部抑瘤效应。本文不根据单一分子建立普适构效关系，并将水相递送和系统给药评价作为后续研究方向。

2 实验材料与方法

2.1 实验试剂与材料

对照试剂吲哚菁绿（ICG）、二甲基亚砜（DMSO）和琼脂糖等均为商品化试剂，按实验要求直接使用。细胞培养相关试剂包括胎牛血清（fetal bovine serum, FBS）、Dulbecco's modified Eagle medium（DMEM）、磷酸盐缓冲盐水（phosphate buffered saline, PBS）和双抗（penicillin-streptomycin, PS），其中 FBS 购自美国 Sigma 公司，DMEM 培养基、PBS 和双抗购自美国 Gibco 公司。目标分子 ZZ（双三苯胺半菁染料，$C_{61}H_{47}N_2O_2S^+$，相对分子质量 871.34）经有机合成获得，合成路线见图 2。目标分子 ZZ 经核磁共振谱和高分辨质谱确认结构后，用于后续光谱、光热和生物实验。

录用稿件，非最终出版稿

2.2 稳态光谱测试与理论计算

将 ZZ 分别制备为薄膜样品和不同溶剂中的稀溶液样品，用于测试其稳态吸收和荧光发射光谱。薄膜样品以石英片为基底，将 ZZ 溶液滴加于基底表面，待溶剂挥发后形成染料薄膜。溶液样品中，ZZ 浓度为 5 μM，分别溶解于不同极性溶剂中，用于比较溶剂微环境对光谱行为的影响。

通过紫外-可见-近红外吸收光谱分析 ZZ 在薄膜态和溶液中的长波吸收特征，并通过荧光发射光谱考察其近红外发射行为及环境响应。为比较溶剂环境对 ZZ 电子跃迁能量的影响，根据实验峰位进行光谱参数计算。光子能量计算公式如式（1）所示，光谱波数计算公式如式（2），Stokes 位移计算公式如图（3）：

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = \frac{1239.84}{\lambda} \qquad (1)$$

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{10^7}{\lambda_{nm}}(cm^{-1}) \qquad (2)$$

$$\Delta\tilde{\nu} = \frac{10^7}{\lambda_{abs}} - \frac{10^7}{\lambda_{em}} \qquad (3)$$

式中E的单位为 eV，λ的单位为 nm[16]。

2.3 光热转换效率测定与计算

将 ZZ 制备成 DMSO 溶液（100 μM）用于光热转换效率测试。由于 ZZ 为疏水性有机小分子，在 DMSO 中具有较好的溶解性和光谱稳定性，因此光热转换效率首先在 DMSO 均一溶液体系中测定，以获得其分子本征光热转换能力。该结果用于评价 ZZ 的光热潜力，而不等同于生理水相或系统给药条件下的治疗性能。取 1.0 mL 样品溶液加入比色皿，在 808 nm 半导体激光器照射下记录升温过程，功率密度为 0.5 W·cm^{-2}；温度达到平台后关闭光源，并记录自然冷却过程。ICG 作为对照试剂，与 ZZ 保持相同溶剂、相同 A_{808}（0.68）和相同激光条件，以比较两种染料在同一条件下的光能-热能转换能力。根据升温-冷却曲线，按经典能量平衡方法计算光热转换效率[39]，计算公式如式（4）所示：

$$\eta = \frac{hS(T_{max}-T_{surr})-Q_{dis}}{I(1-10^{-A_{808}})} \qquad (4)$$

录用稿件，非最终出版稿

式中，hS为传热系数与受热面积的乘积，T_{max}为激光照射达到稳态时的最高温度，T_{surr}为环境温度，Q_{dis}为溶剂和样品池的背景吸热项，I为入射激光功率，A_{808}为样品在 808 nm 处的吸光度。

2.4 光热循环稳定性测定

光热循环稳定性采用近红外激光开关方式测试。ZZ 溶液浓度为 100 μM，在 808 nm 激光下循环照射，激光功率密度为 1.0 W • cm^{-2}。每次照射 3 min 后关闭激光，使样品自然冷却至接近初始温度，再进入下一轮照射和冷却过程，共进行 5 次循环并记录温度变化。

2.5 4T1 细胞光热评价

采用 4T1 乳腺癌细胞评价 ZZ 的细胞光热效应。4T1 细胞由课题组冻存，复苏并传代培养后使用；培养体系为含 FBS 和双抗的 DMEM 培养基。细胞以 5 × 104 cells • mL^{-1} 接种于 96 孔板，在 37 ℃、5% CO2 环境中贴壁培养 24 h 后，加入不同浓度 ZZ（0、10、20、50、100 μM）并孵育 8 h。随后将样品分为避光处理组和光照组，光照组采用 808 nm 激光（1.5 W • cm^{-2} ）照射 3 min。照射结束后，使用商用细胞计数试剂盒-8（Cell Counting Kit-8, CCK-8）检测细胞活力，并采用 Calcein 乙酰甲氧基酯（calcein acetoxymethyl ester, Calcein-AM）/碘化丙啶（propidium iodide, PI）活/死染色观察细胞损伤状态。

2.6 4T1 荷瘤小鼠体内评价

采用 4T1 荷瘤小鼠模型评价 ZZ 的局部体内光热效应，每组 3 只。图 6 所示实验包括空白组、仅激光组、DMSO 载体联合激光组、0.1 mg ZZ 联合激光组和 0.2 mg ZZ 联合激光组。4T1 细胞培养至实验所需状态后，收集并制备细胞悬液，在异氟烷诱导麻醉后皮下注射建立实体瘤模型。接种 7 d 后，将小鼠转移至成像治疗平台，并通过鼻锥给予 1%–2%异氟烷维持麻醉；随后按分组进行瘤内给药、808 nm 激光照射 180 s 和红外热成像。治疗后观察 18 d，期间记录肿瘤体积和体重，并以首次治疗时的肿瘤体积 V_0 为基准计算相对肿瘤体积 V/V_0；观察结束后取主要脏器进行苏木精-伊红（hematoxylin and eosin, H&E）染色。

2.7 动物伦理与饲养条件

录用稿件，非最终出版稿

本研究涉及的动物实验均经深圳大学实验动物伦理委员会批准，许可证号：SYXK（粤）2022-0302，实验实施与结果报告遵循国家实验动物管理相关规定及 ARRIVE 2.0 指南[41]。实验所用动物为雌性 BALB/c 小鼠（6-8 周龄，18-22 g），饲养于 无特定病原体（specific pathogen-free, SPF）级动物房，在 22 ± 2 ℃、相对湿度 50%-60%、12 h 光/暗循环条件下自由摄食和饮水。正式实验前进行 3-7 d 适应性饲养。在给药、激光照射和红外热成像过程中，小鼠采用异氟烷吸入麻醉（1.5%–2.0%）。达到实验终点或人道终点后，按动物伦理规范实施安乐死。

3 结果与讨论

3.1 ZZ分子制备与结构表征

为获得深近红外吸收并考察其光热应用潜力，ZZ 采用双给体-π桥-受体（D-D′-π-A）构型设计（图 2）。三苯胺单元作为电子给体，可通过给体—受体耦合调控分子内电荷转移（intramolecular charge transfer, ICT）和近红外吸收；扩展半菁正离子作为电子受体，其缺电子吡喃鎓环有利于降低最低未占有分子轨道能级。4-甲氧基苯硫醚桥作为π连接单元可延长共轭长度并调节激发态能量耗散。硫原子对具体辐射与非辐射衰减通道的影响仍需结合量子产率和时间分辨光谱进一步验证，本文不据此作定量机理判断[42]。

ZZ 的合成以环己酮和三苯胺为起始原料，分两条路线并行推进：醛基组分 1c 经 Vilsmeier-Haack 甲酰化、酚羟基烷基化和 Suzuki-Miyaura 交叉偶联三步反应获得；半菁盐 4X 经 Friedel-Crafts 酰基化、Claisen 缩合、硫醚化和 Grignard 加成-环化四步反应获得。1c 与 4X 经 Knoevenagel 缩合得到目标产物 ZZ，总产率约 3.9%，化学结构经氢核磁共振（^{1}H nuclear magnetic resonance, ^{1}H NMR）和高分辨质谱（high-resolution mass spectrometry, HRMS）确证。^{1}H NMR（500 MHz, DMSO-d6），低场区 δ 8.91 ppm 和 8.63 ppm 处的两个单峰分别归属于半菁共轭桥烯烃质子和吡喃鎓环 α-位质子；δ 6.98–8.13 ppm 为重叠的芳香区信号，高场区 δ 4.01 ppm 处的单峰（3H）归属于硫桥端甲氧基，δ 2.89 ppm、2.78 ppm 和 1.87 ppm 处的三个单峰（各 2H）分别归属于环己烯并吡喃鎓环上的三组亚甲基质子。HRMS（ESI-MS）给出 m/z = 871.3260 的分子离子峰（[M]+），与计算值 $C_{61}H_{47}N_2O_2S^+$吻合。

录用稿件，非最终出版稿

上述 NMR 和 HRMS 结果共同确证了 ZZ 的双三苯胺 D-D'-π-A 共轭结构和分子组成，其扩展的共轭体系和增强的 ICT 特征为后续深近红外吸收、高效光热转换及体内外抗肿瘤效应研究提供了结构基础。

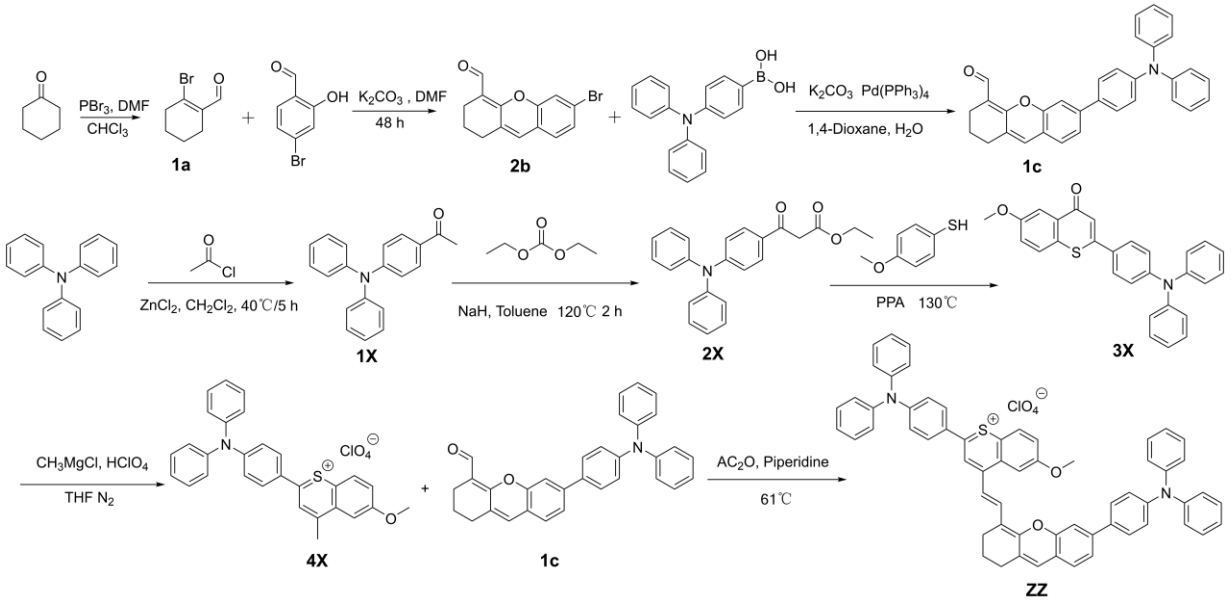


图 2 ZZ 的分子合成路径。

Fig. 2 Molecular synthesis pathway of ZZ.

3.2 ZZ 的稳态光谱与长波吸收特征

ZZ 在 DMSO 和 1,4-Dioxane 中的最大吸收波长分别约为 851 和 840 nm，对应吸收光子能量为 1.457 和 1.476 eV；最大发射波长分别为 1064 和 973 nm，对应发射光子能量为 1.165 和 1.274 eV。与 1,4-Dioxane 相比，DMSO 中吸收峰红移约 11 nm（ΔE_abs ≈ 0.019 eV），而发射峰红移 91 nm（ΔE_em ≈ 0.109 eV，约 10.5 kJ·mol^{-1}）。两种溶剂中的 Stokes 位移分别为 2352 和 1623 cm^{-1}，DMSO 中增大约 729 cm^{-1}。发射相较吸收表现出显著更强的溶剂依赖性，说明弛豫激发态比基态垂直跃迁具有更强的极性响应[16]。

ZZ 含有两个三苯胺给电子单元，通过扩展 π 共轭桥与阳离子半菁受体连接，形成 D-D'-π-A 推拉型电子结构。该结果与极性较高的 DMSO 对电荷分离型 ICT 激发态的优先稳定作用一致，激发后电子密度由供体向受体重新分布，增大激发态偶极矩，极性溶剂通过取向极化降低弛豫激发态能量，从而产生更低能量的发射和更大的 Stokes

录用稿件，非最终出版稿

位移。同一测试条件下，ZZ 在 DMSO 中的稳态发射弱于在 1,4-Dioxane 中的发射，该趋势与 ICT 增强伴随的非辐射衰减增加相一致。

如图 3A 所示，固态堆积环境中的分子间 π - π 相互作用与偶极耦合导致薄膜吸收峰显著展宽，使其在聚集态下仍具备宽带深近红外吸收能力；同时分子间距的缩短增强了聚集态的非辐射弛豫，导致薄膜荧光减弱。此外，基于其 D-D'- π -A 结构的分子内电荷转移（ICT）特性，ZZ 的光激发过程对溶剂微环境高度敏感[16]。如图 3B 和 3C 所示，ZZ 在多种溶剂中于 808 nm 附近均保持有效吸收；而在高极性溶剂中，电荷分离激发态的稳定化进一步加剧了分子的构象弛豫与非辐射衰减，导致荧光发生红移并显著猝灭。上述结果表明，聚集作用与溶剂极性均能有效促使 ZZ 的激发态能量由辐射跃迁向非辐射耗散路径转移，为其展现优异的光热转换性能提供了明确的光物理基础[15,42]。

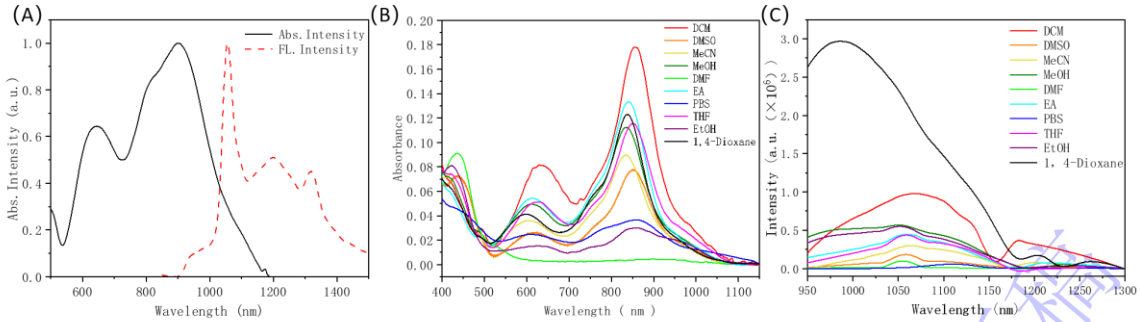


图 3 ZZ 的薄膜态及不同溶剂中的稳态光谱。（A）薄膜状态下 ZZ 的吸收和发射光谱；（B）不同溶剂中 ZZ 的吸收光谱；（C）不同溶剂中 ZZ 的发射光谱。

Fig. 3 Steady-state spectra of ZZ in the film state and different solvents. (A) Absorption and emission spectra of ZZ in the film state; (B) absorption spectra of ZZ in different solvents; (C) emission spectra of ZZ in different solvents.

3.3 ZZ 的光热转换性能、ICG 对比与循环稳定性

在光谱测试基础上，进一步考察 ZZ 的光热转换行为。结合图 3 可知，ZZ 在 808 nm 附近具有明显吸收，能够匹配后续激光照射波长；其在部分溶剂和聚集环境中表现出的发射减弱，也提示激发态能量可能更多经非辐射途径耗散，为光热转换提供光物理基础。图 4A 显示，ZZ 在 100 μM DMSO 体系中于 808 nm 处的吸光度为 0.68，在 808 nm 激光照射下温度逐渐升高，最大温升为 19.5 ℃；关闭激光后，体系温度自然下降。根据代表性升温-冷却曲线和经典能量平衡模型计算，ZZ 光热转换效率的代表性计算值为 76.1%[39]。图 4B 显示，在相同溶剂、相同 A_{808}（0.68）和相同激光条件下，ICG 光热转换效率的代表性计算值为 32.6%。文献中以相同计算方法评价游离 ICG 时，其光热转换

录用稿件，非最终出版稿

效率约为 29.0%，与本实验测得的 32.6%处于同一量级[40]。该对照减少了吸光度差异带来的影响，主要反映两种染料在同一测试体系中的热转换差异。结合 ICG 光热行为易受环境和测试条件影响的特点[40]，ZZ 在该条件下表现出更高的热输出能力。

重复照射下的热响应稳定性关系到后续体外和体内实验的可靠性。图 4C 显示，ZZ 在 5 次激光开关循环中均能完成升温和自然降温过程，循环间最高温度变化较小，说明其在重复光照下保持了较稳定的光热响应。

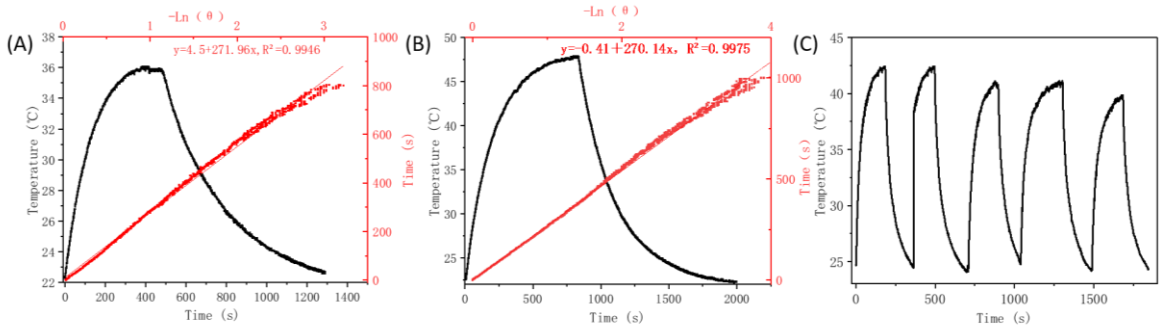


图 4 ZZ 的光热转换性能、ICG 对比与循环稳定性。（A）ZZ 的升温/冷却曲线及光热转换效率计算；（B）ICG 的升温/冷却曲线及光热转换效率计算；（C）ZZ 的 5 次激光开关循环稳定性。

Fig. 4 Photothermal conversion performance, ICG comparison, and cycling stability of ZZ. (A) Heating/cooling curve and photothermal conversion efficiency calculation of ZZ; (B) heating/cooling curve and photothermal conversion efficiency calculation of ICG; (C) cycling stability of ZZ during five laser on/off cycles.

3.4 ZZ在凝胶体系和 4T1 细胞中的体外光热转换测试

溶液体系中的热输出不能完全代表生物相关环境中的光热行为，因此将 ZZ 分散于琼脂糖凝胶中观察局部热响应。图 5A、B 显示，ZZ 在半固体凝胶中可形成局部升温，且温升随 ZZ 浓度增加而增强；当浓度为 100 μM 时，体系温度可升至约 47 ℃，说明 ZZ 在存在散射和传热限制的环境中仍能产生热累积。随后采用 4T1 细胞模型观察光热效应能否转化为细胞损伤。图 5C、D 显示，ZZ 与细胞孵育后，暗条件下对细胞影响较小；经 808 nm 激光照射后，细胞活力随 ZZ 浓度升高而下降，100 μM 时降至 13.2%。Calcein-AM/PI 活/死染色结果与 CCK-8 结果一致，说明 ZZ 的光热效应可在细胞层面产生光照依赖性杀伤作用。

录用稿件，非最终出版稿

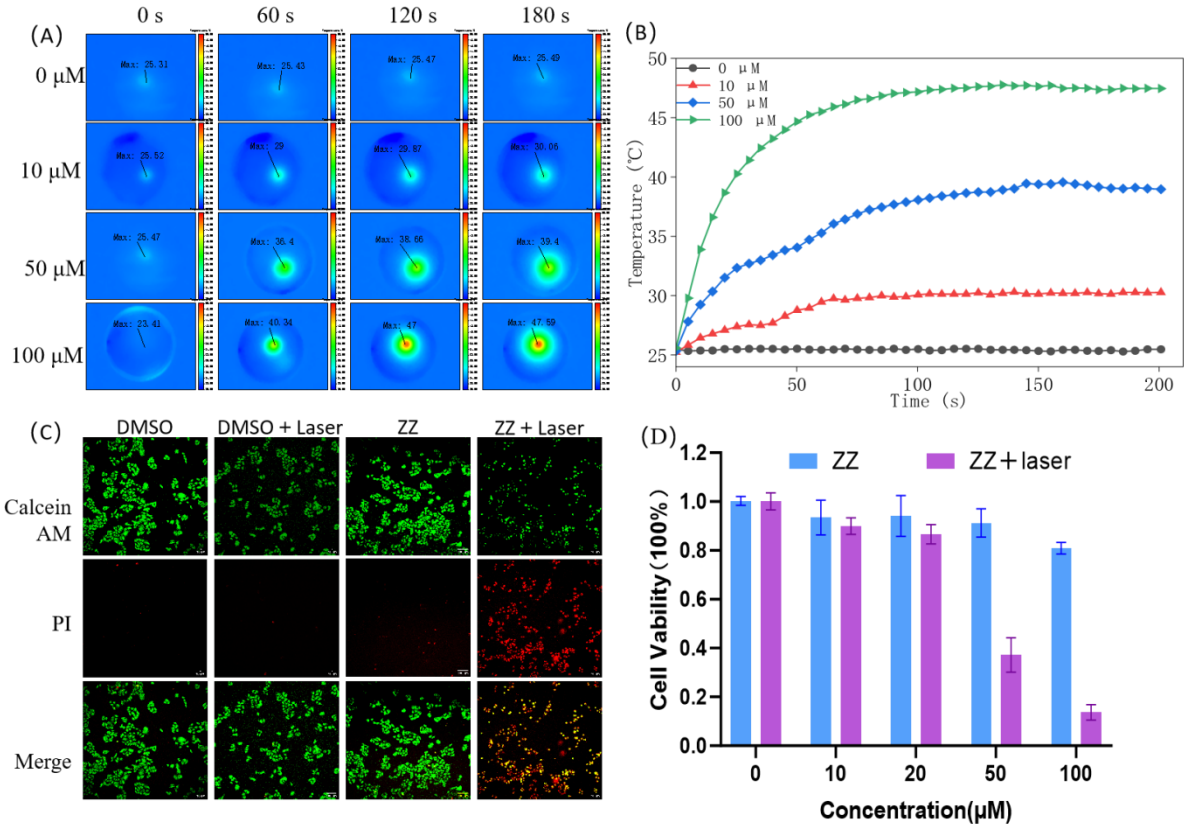


图 5 ZZ 的体外光热效应。（A）琼脂糖凝胶模型中不同浓度 ZZ 的红外热成像图像；（B）对应的温度-时间曲线；（C）4T1 细胞在不同处理条件下的 Calcein-AM/PI 活/死染色图像；（D）不同浓度 ZZ 在有无激光照射条件下的细胞活力。

Fig. 5 In vitro photothermal effects of ZZ. (A) Infrared thermal images of agarose gel models containing different concentrations of ZZ; (B) corresponding temperature-time curves; (C) Calcein-AM/PI live/dead staining images of 4T1 cells under different treatments; (D) cell viability after treatment with different concentrations of ZZ with or without laser irradiation.

3.5 ZZ 在 4T1 荷瘤小鼠中的体内热响应与抑瘤效应

体外实验显示 ZZ 在光照下可产生热转换并造成 4T1 细胞损伤，因此进一步在 4T1 荷瘤小鼠中观察体内热响应和肿瘤生长抑制作用。实验采用瘤内注射方式给药，并在异氟烷麻醉维持下进行 808 nm 激光照射和红外热成像。图 6A、B 显示，ZZ 注射后肿瘤区域在激光照射下形成局部热场，且升温幅度随 ZZ 给药量增加而增强；0.1 mg 和 0.2 mg ZZ 处理组的肿瘤区域温度分别升至约 55 ℃和 65 ℃，高于空白组、仅激光组和 DMSO 组。图 6C、D 显示，ZZ 联合激光组的离体肿瘤体积较小，肿瘤生长曲线低于对照组；其中 0.2 mg ZZ 联合激光组的抑瘤效果更明显，与其较高的瘤区升温相对应。该结果说明，ZZ 在小鼠肿瘤部位形成的局部热场可转化为实体瘤生长抑制作用。

录用稿件，非最终出版稿

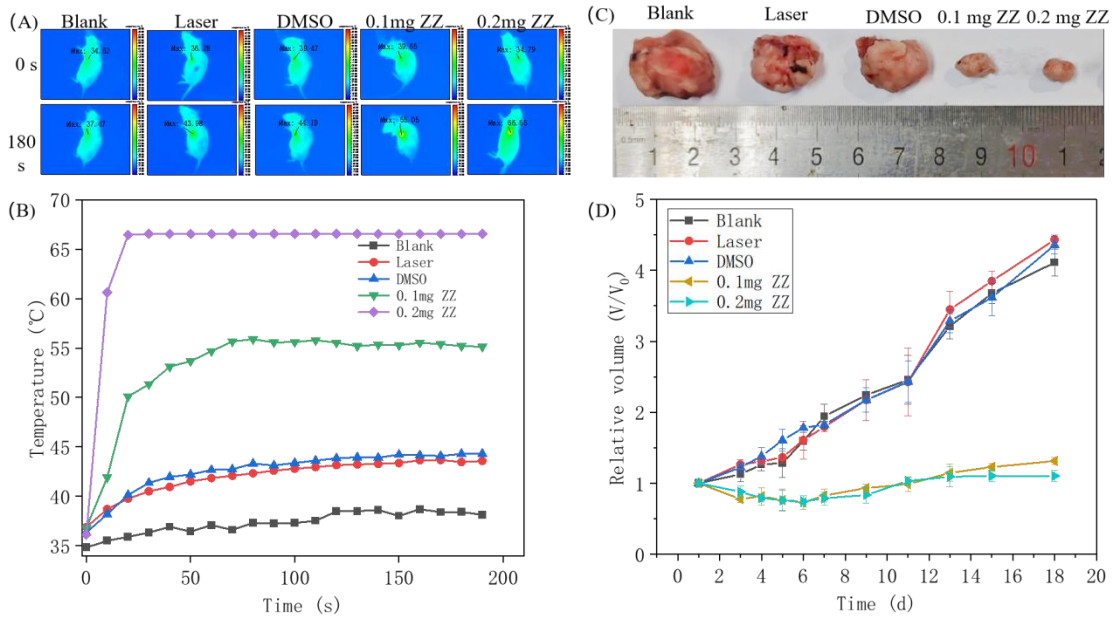


图 6 ZZ 在 4T1 荷瘤小鼠中的体内热响应与抗肿瘤效果。（A）不同处理组在激光照射前后的代表性红外热成像图像；（B）肿瘤区域温度变化曲线；（C）治疗终点剥离肿瘤照片；（D）肿瘤生长曲线（均值 ± 标准差，n = 3）。

Fig. 6 In vivo thermal response and antitumor effects of ZZ in 4T1 tumor-bearing mice. (A) Representative infrared thermal images of different treatment groups before and after laser irradiation; (B) temperature variation curves in tumor regions; (C) photographs of excised tumors at the treatment endpoint; (D) tumor growth curves (mean ± standard deviation, n = 3).

3.6 ZZ 的短期体内生物相容性

体内光热治疗还需要观察给药和光照处理后的生物相容性。本研究在治疗期间记录各组小鼠体重变化，并在治疗结束后取心、肝、脾、肺、肾等主要脏器进行 H&E 染色。图 7A 显示，在当前观察期内，各组小鼠体重整体保持稳定，未见持续下降趋势。图 7B 显示，各组主要脏器组织结构未见明显坏死、炎症浸润或水肿等异常。上述结果提示，ZZ 在本研究给药方式、剂量和观察周期内具有较好的体内生物相容性。

录用稿件，非最终出版稿

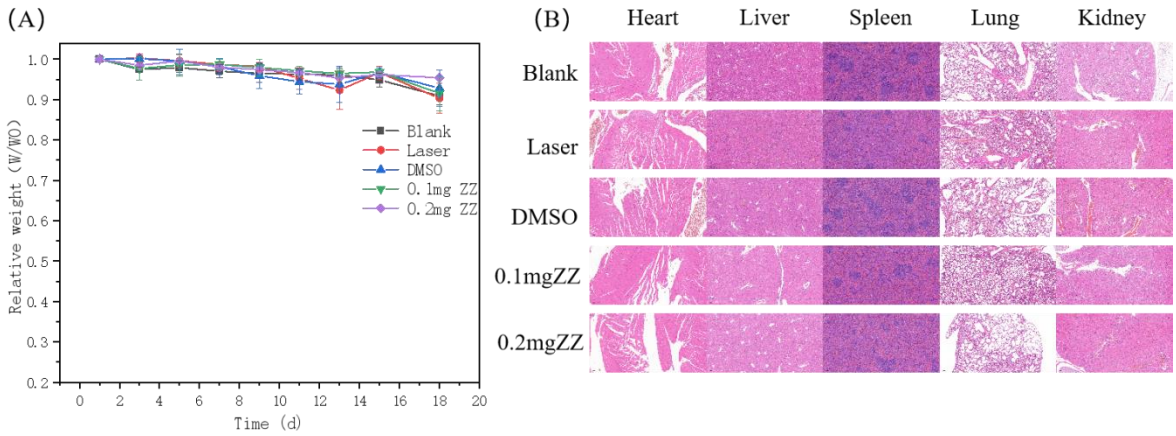


图 7 ZZ 的短期体内生物相容性评价。（A）不同治疗组小鼠体重随时间变化曲线（均值 ± 标准差，n = 3）；（B）治疗结束后各组小鼠主要器官（心、肝、脾、肺、肾）的 H&E 染色图像。
Fig. 7 Short-term in vivo biocompatibility evaluation of ZZ. (A) Body-weight curves of mice in different treatment groups (mean ± standard deviation, n = 3); (B) H&E staining images of major organs (heart, liver, spleen, lung, and kidney) collected after treatment.

4 结论

本文围绕具有深近红外吸收和近红外二区发射特征的双三苯胺共轭半菁染料 ZZ，建立了从分子结构、光谱响应、光热转换到体内外肿瘤光热生长抑制效应的研究体系。结构上，ZZ 具有给体-π共轭桥-受体型（D-D'-π-A）分子内电荷转移结构，主吸收峰约位于 850 nm，发射覆盖 950-1300 nm。在 808 nm 激光照射下，ZZ 可产生稳定光热输出；在 100 μM DMSO 体系中，最大温升为 19.5 ℃，光热转换效率为 76.1%，并在 5 次激光升温-降温循环中保持较好稳定性。凝胶和 4T1 细胞实验进一步说明，ZZ 在复杂介质模型中仍能保持热累积和光照依赖性细胞损伤能力。4T1 荷瘤小鼠实验表明，ZZ 联合激光照射可在肿瘤部位形成局部热场，并抑制实体肿瘤生长；体重和主要脏器 H&E 染色结果显示，在当前剂量和观察周期内未见明显短期组织学异常。与组成复杂的纳米光热体系相比，ZZ 小分子结构明确，更有利于分析 D-D'-π-A 结构、分子内电荷转移和非辐射衰减之间的关系，为半菁类小分子光热剂的结构优化提供了实验依据，但是分子实验目前尚未建立水相稳定的递送体系，因此，后续需通过递送体系构建和更接近临床情境的药效安全性研究进一步完善。总体来看，ZZ 作为一种结构明确的小分子光热转换试剂，具有较高光热转换能力和体内外抗肿瘤效果，为实体肿瘤光热治疗提供了候选分子和实验依据，

参考文献

[1]Liu Y, Bhattarai P, Dai Z, Chen X 2019 *Chem. Soc. Rev.* **48** 2053

[2] Jung H S, Verwilst P, Sharma A, Shin J, Sessler J L, Kim J S 2018 *Chem. Soc. Rev.* **47** 2280

[3]Wang K, Xue S S, Liu X, Pan W, Li N, Tang B 2021 *Chem. Commun.* **57** 6584

[4]Kenry, Duan Y, Liu B 2018 *Adv. Mater.* **30** 1802394

[5]Wu D D, Pan L, Zhou Z, Fu W W, Zhu H L, Dong Y F 2024 *Acta Phys. Sin.* **73** 078701 (in Chinese) [邬丹丹, 潘力, 周哲, 付威威, 朱海龙, 董月芳 2024 *物理学报* **73** 078701]

[6]He S, Song J, Qu J, Cheng Z 2018 *Chem. Soc. Rev.* **47** 4258

[7]Antaris A L, Chen H, Cheng K, Sun Y, Hong G, Qu C, Diao S, Deng Z, Hu X, Zhang B, Zhang X, Yaghi O K, Alamparambil Z R, Hong X, Cheng Z, Dai H 2016 *Nat. Mater.* **15** 235

[8]Dai H, Shen Q, Shao J, Wang W, Gao F, Dong X 2021 *Innovation* **2** 100082

[9]Ding Z, Gu Y, Zheng C, Gu Y, Yang J, Li D, Xu Y, Wang P 2022 *Coord. Chem. Rev.* **464** 214564

[10]Lv S, Miao Y, Liu D, Song F 2020 *ChemBioChem* **21** 2098

[11]Shi C, Wu J B, Pan D 2016 J. *Biomed. Opt. 21* 050901

[12]Qiu Y, Yuan B, Cao Y, He X, Akakuru O U, Lu L, Chen N, Xu M, Wu A, Li J 2023 *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.* **15** e1910

[13] Zhang J, Wang W, Shao J, Chen J, Dong X 2024 *Coord. Chem. Rev.* **516** 215986

[14]Zhao X, Zhang F, Lei Z 2022 *Chem. Sci.* **13** 11280

[15]Mei J, Leung N L C, Kwok R T K, Lam J W Y, Tang B Z 2015 *Chem. Rev.* **115** 11718

[16]Reichardt C 1994 *Chem. Rev.* **94** 2319

[17]Qian H, Cheng Q, Tian Y, Dang H, Teng C, Yan L 2021 *J. Mater. Chem. B* **9** 2688

[18]Zhang R, Xu Y, Zhang Y, Kim H S, Sharma A, Gao J, Yang G, Kim J S, Sun Y 2019 *Chem. Sci.* **10** 8348

[19]Cai S, Wu L, Li Y, Samanta S, Wang J, Liu B, Wu F, Lai K, Liu Y, Qu J, Yang Z 2024 *Chin. Chem. Lett.* **35** 108599

[20] Wang Y, Liu X, Liu C, Su Y, Cong H, Gong S, Yu B, Shen Y 2023 *Dyes Pigm.* **210** 111010

[21]Wang L, Li N, Wang W, Mei A, Shao J, Wang W, Dong X 2024 *ACS Nano* **18** 4683

[22]Schwechheimer C, Rönicke F, Schepers U, Wagenknecht H A 2018 *Chem. Sci.* **9** 6557

录用稿件，非最终出版稿

[23]Sissa C, Painelli A, Terenziani F, Trotta S, Ragni R 2020 *Phys. Chem. Chem. Phys.* **22** 129
[24]Lei S, Zhao F, Zhang J, Blum N T, He T, Qu J, Huang P, Lin J 2022 *Anal. Chem.* **94** 8399
[25]Li S, Deng Q, Zhang Y, Li X, Wen G, Cui X, Wan Y, Huang Y, Chen J, Liu Z, Wang L, Lee C S 2020 *Adv. Mater.* **32** 2001146
[26]Yuan L, Su Y, Yu B, Shen Y, Cong H 2023 *Biomater. Sci.* **11** 985
[27]Thavornpradit S, Usama S M, Park G K, Shrestha J P, Nomura S, Baek Y, Choi H S, Burgess K 2019 *Theranostics* **9** 2856
[28]Li X, Zhang D, Lu G, He T, Wan Y, Tse M K, Ren C, Wang P, Li S, Luo J, Lee C S 2021 *Adv. Mater.* **33** 2102799
[29]Deng G W, Chen H Y, Wang J X, Chen K X, Li L, Zhang S L, Sun K, Li Z H, Liu J 2022 *Mater. Chem. Front.* **6** 1180
[30]Lu B, Huang Y Y, Zhang Z C, Quan H, Yao Y 2022 *Mater. Chem. Front.* **6** 2968
[31]Guo S, Gu D Y, Yang Y, Tian J, Chen X 2023 *J. Nanobiotechnol.* **21** 348
[32]Sun M X, Zhao X L, Cao X H, Li X Y, Xu J S, Meng X T, Lu H G, Zhao X W 2024 *Talanta* **274** 125991
[33]Chen Y S, Li L, Chen W J, Chen H Y, Yin J 2019 *Chin. Chem. Lett.* **30** 1353
[34]Luo S, Luo X, Wang X, Li L, Liu H, Mo B, Gan H, Sun W, Wang L, Liang H, Yu S 2022 *Small* **18** 2201298
[35]Bin Y, Huang L, Qin J, Zhao S, Tian J, Zhang L 2025 *Bioconjugate Chem.* **36** 803
[36]Li Y, Zhang J, Liu S, Zhang C, Chuah C, Tang Y, Kwok R T K, Lam J W Y, Ou H, Ding D, Tang B Z 2021 *Adv. Funct. Mater.* **31** 2102213
[37]Zheng Y, Li Q, Wu J, Luo Z, Zhou W, Li A, Chen Y, Rouzi T, Tian T, Zhou H, Zeng X, Li Y, Cheng X, Wei Y, Deng Z, Zhou F, Hong X 2021 *Chem. Sci.* **12** 1843
[38]St. Lorenz A, Buabeng E R, Taratula O, Taratula O, Henary M 2021 *J. Med. Chem.* **64** 8798
[39]Roper D K, Ahn W, Hoepfner M 2007 *J. Phys. Chem. C* **111** 3636
[40]Li S, Li Y, Shi M, Xing R, van Hest J C M, Yan X 2024 *J. Mater. Chem. B* **12** 10915
[41]Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey M T, Baker M, Browne W J, Clark A, Cuthill I C, Dirnagl U, Emerson M, Garner P, Holgate S T, Howells D W, Karp N A, Lazic S E, Lidster K, MacCallum C J, MacLeod M, Pearl E J, Petersen O H, Rawle F, Reynolds P, Rooney K, Sena E S, Silberberg S D, Steckler T, Würbel H 2020 *PLoS Biol.* **18** e3000410

录用稿件，非最终出版稿

[42]Chen X, Ma X, Yang G, Huang G, Dai H, Yu J, Liu N 2024 *ACS Appl. Mater. Interfaces* **16** 12332

录用稿件，非最终出版稿

Photothermal conversion and antitumor effects of a bis triphenylamine-conjugated hemicyanine dye with deep near-infrared absorption and NIR-II emission*

YANG Zhigang1†, ZHANG Ziyan1, ZHANG Shiqing1, WU Xianghua2, WU Zhangyue1, ZOU Yi1, HUANG Zhihui1, LIAN Jiarong1, ZHANG Junfeng2

(1 Key Laboratory of Optoelectronic Devices and Systems of Guangdong Province and Ministry of Education, College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

([2] School of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China)

Abstract:

Organic small-molecule photothermal agents operating in the second near-infrared window (NIR-II, 1000–1700 nm) are attractive candidates for tumor photothermal therapy owing to their well-defined structures, tunable optical properties, and favorable biocompatibility. However, for dyes that combine deep-near-infrared (deep-NIR) absorption with NIR-II emission, establishing a coherent relationship linking molecular structure, spectral response, photothermal conversion efficiency (PCE), and biological performance under comparable experimental conditions remains a challenge. Here, we report ZZ, a bis(triphenylamine)-conjugated hemicyanine dye featuring a double-donor-π-bridge–acceptor (D-D'-π-A) framework. ZZ exhibited a deep-NIR absorption maximum at approximately 850 nm and NIR-II emission spanning 950–1300 nm. Systematic steady-state absorption and fluorescence measurements in the film state and in solvents of different polarity revealed pronounced positive solvatochromism. Specifically, from 1,4-dioxane to DMSO, the absorption peak red-shifted by only about 11 nm (from 840 to 851 nm), whereas the emission peak red-shifted by 91 nm (from 973 to 1064 nm), accompanied by an increase in the Stokes shift from 1623 to 2352 cm^{-1} and a decrease in the emission energy of about 0.109 eV. This behavior is consistent with intramolecular charge transfer (ICT) character, in which the more polar solvent preferentially stabilizes the charge-separated excited state and enhances nonradiative decay. Under 808 nm laser irradiation, ZZ in DMSO (100 μM) produced a maximum temperature increase of 19.5 ℃ and a photothermal conversion efficiency of 76.1%, markedly higher than that of indocyanine green (ICG, 32.6%) measured under matched solvent, absorbance at 808 nm, and irradiation conditions. ZZ also retained stable photothermal performance over five laser on/off cycles and induced concentration-dependent, light-triggered cytotoxicity against 4T1 cells (cell viability decreased to 13.2% at 100 μM). In 4T1 tumor-bearing mice, intratumoral injection of ZZ followed by

808 nm irradiation generated localized heating and significantly inhibited tumor growth, while body-weight monitoring and H&E staining of major organs revealed no obvious short-term abnormalities. Because no nanodelivery system was employed, these findings establish the local photothermal potential of ZZ rather than its systemic therapeutic performance. ZZ therefore provides a structurally defined molecular scaffold for deciphering the structure–photophysics–photothermal relationship and for the further optimization of hemicyanine-based photothermal agents and their delivery strategies.

Keywords: hemicyanine dye; intramolecular charge transfer; photothermal conversion; photothermal therapy; antitumor effect

The project is partially supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2023YFC3402903), the Guangdong Natural Science Foundation (No. 2026A1515011379), and the Shenzhen Science and Technology Innovation Program (No. 20231120175730001).

†Corresponding E-mail: zhgyang@szu.edu.cn

录用稿件，非最终出版稿