

文章编号: 1006-3080(2026)02-0168-08

DOI: 10.14135/j.cnki.1006-3080.20250928001

硒取代黄酮染料构建及其光热性能

赵兴源, 燕宸旭, 郭志前

(华东理工大学精细化工研究所, 上海 200237)

摘要:光疗法凭借其高选择性、低损伤优势成为癌症治疗领域的研究热点, 而染料的波长范围与靶向精准度是制约其临床应用的关键瓶颈。本文利用重原子效应, 以黄酮类染料为母体, 通过硒原子取代氧原子的结构修饰策略, 开发了新型长波长染料 M-Se-F-N, 为光热治疗技术升级提供了新的解决方案。该染料采用 D- π -A 共轭结构, 其与 RNA 特异性结合后的最长吸收波长突破 800 nm, 有效覆盖近红外诊疗窗口。借助癌细胞内 RNA 高表达的生理特性, M-Se-F-N 染料可实现肿瘤部位精准富集, 在激光激发波长为 808 nm 条件下, M-Se-F-N 能将局部温度快速升高至 53 °C 左右的有效治疗区间, 对 HeLa 细胞实现了高选择性光热杀伤, 且脱靶毒性极低。该染料不仅展现出优异的光热稳定性, 还具有良好的生物相容性。本文通过结构创新突破了传统黄酮染料的性能局限, 为开发兼具靶向性与安全性的光热治疗试剂提供了新思路, 有望拓展光疗法在乏氧肿瘤精准治疗中的临床转化应用。

关键词: 黄酮染料; 硒; 光热治疗; RNA 探针; 近红外; D- π -A

中图分类号: TQ61

文献标志码: A

光疗法作为近年来发展迅猛的癌症治疗手段, 其核心治疗模式是将具有特异靶向性的染料精准输送至肿瘤部位, 随后借助特定波长的激光照射患处, 促使癌细胞发生光化学或光物理变化, 进而实现高选择性地破坏与杀灭癌细胞的目的^[1-3]。当前, 光疗法中最为常见的类型是光动力疗法(Photodynamic Therapy, PDT)和光热疗法(Photothermal Therapy, PTT)。光动力疗法主要依赖光照激发染料, 使其产生活性氧物种(Reactive Oxygen Species, ROS)。这些活性氧物种能够氧化并破坏癌细胞内的生物活性大分子, 同时扰乱肿瘤微环境中的氧化还原平衡, 最终达到抑制肿瘤生长、高效杀伤癌细胞的效果^[3-6]。而光热疗法凭借染料优异的光热转换效率, 即便在较低光照强度下, 也能显著升温。该疗法可使肿瘤局部乃至癌细胞局部升温至 40 °C 以上, 借助精确靶向的染料, 在病变组织和细胞内形成局部高温, 既能有

效抑制癌细胞的增殖活性, 又能精准杀伤癌细胞^[7]。上述两种光疗法从不同机制出发, 为癌症治疗提供了多样化的有效策略, 在肿瘤治疗领域展现出巨大的应用潜力^[8]。

黄酮类染料凭借荧光亮度高、光稳定性良好、化学修饰便捷以及波长调控灵活等显著优势, 在生物成像与光疗法等前沿科研领域占据重要地位^[9-14]。不过, 其在长波长窗口诊疗以及靶向特异性方面仍存在亟待突破的瓶颈。已有研究^[15-17]表明, 借助重原子效应调节染料的吸收、发射波长, 并优化其光热、光动力性能, 能够极大拓展有机染料在临床诊疗领域的应用边界。基于此, 本研究以易于化学修饰的黄酮类染料为基础骨架, 针对其波长范围受限和靶向精准度不足的关键问题, 深入挖掘重原子效应潜力, 开发了一种新型黄酮染料, 通过将染料母体结构中的氧原子替换为硒原子, 成功设计并合成了新

收稿日期: 2025-09-28

基金项目: 国家自然科学基金杰出青年基金(22225805)

作者简介: 赵兴源(2000—), 男, 山东泰安人, 硕士生, 主要研究方向为荧光探针。E-mail: 857459183@qq.com

通信联系人: 郭志前, E-mail: guozq@ecust.edu.cn

引用本文: 赵兴源, 燕宸旭, 郭志前. 硒取代黄酮染料构建及其光热性能[J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2026, 52(2): 168-175.

Citation: ZHAO Xingyuan, YAN Chenxu, GUO Zhiqian. Construction of Selenium-Substituted Flavonoid Dyes and Their Photothermal Properties[J]. Journal of East China University of Science and Technology, 2026, 52(2): 168-175.

型长波长染料 M-Se-F-N。该染料与 RNA 结合后,会呈现显著的波长变化特性,据此实现了对 HeLa 细胞的长波长光热杀伤,为攻克黄酮类染料现存难题、推进光疗法广泛应用提供了新的解决方案。

1 实验部分

1.1 主要原料和试剂

高氯酸(HClO₄, 纯度 70%)、甲苯(PhMe, 纯度 99.5%)、碳酸钠(Na₂CO₃, 分析纯)、碳酸氢钠(NaHCO₃, 分析纯)、石油醚(PE, 纯度 99.0%)、乙酸乙酯(EA, 纯度 95%)、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF, 分析纯),均购自上海阿达玛斯试剂有限公司;2-溴-4-甲氧基苯甲酸(分析纯)、碘化亚铜(CuI, 分析纯)、二氯二(三苯基膦)钯(分析纯)、硒(Se, 分析纯)、硼氢化钠(NaBH₄, 化学纯)、甲基溴化镁(MeMgBr, 1 mol/L 的 THF 溶液)、苯乙炔(纯度 98%),二氯亚砷(SOCl₂, 纯度 98%)、对二甲氨基苯甲醛(分析纯)、氘代二甲亚砷(DMSO-*d*₆, 分析纯)、氘代乙腈(CD₃CN, 分析纯),均购自上海泰坦科技股份有限公司。

1.2 测试与表征

核磁共振波谱仪(¹H-NMR),德国布鲁克公司 Bruker Avance III 型,400 MHz,室温下测试,以四甲基硅烷(TMS)为内标,不同样品分别以氘代乙腈、氘代二甲基亚砷(DMSO)或氘代氯仿为溶剂。电喷雾高分辨质谱仪:美国沃特世公司 Waters LCT Premier XE 型,室温下测定,样品用甲醇溶解配样。紫外-可见分光光度计:美国安捷伦公司 Agilent Cary 6 型,样品溶液在比色皿中检测,扫描波长范围 200~1 000 nm。共聚焦激光扫描显微镜:日本尼康公司 Nikon A1R 型,细胞在 2 mL 培养皿中观察。光热成像仪:上海热像科技股份有限公司 FOTRIC 280 型,样品溶液在离心管内固定于悬空支架上。

1.3 M-Se-F-N 的合成

1.3.1 2-溴-4-甲氧基苯甲酰氯的合成 取干燥的 50 mL 两口瓶,将 2-溴-4-甲氧基苯甲酸(1 658 mg, 7.18 mmol)溶解于氯化亚砷(8 mL)中,70 °C 反应 3 h,减压蒸馏除去过量的氯化亚砷,得到 1 756 mg 黄白色晶体,产率 98.1%。减压蒸馏时,用橡皮管连接两口瓶与安全瓶,再将安全瓶与真空泵连接,安全瓶用液氮冷却。蒸馏结束后,将安全瓶内的氯化亚砷用大量清水稀释,然后以饱和碳酸氢钠溶液中和至溶液呈中性后倒入废液桶。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 3.82 (s, 3H, -CH₃), 7.03 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ph-H), 7.23 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H, Ph-H), 7.81 (d, *J* = 8.7 Hz,

1H, Ph-H)。

1.3.2 1-(4-甲氧基-2-溴苯基)-3-苯基丙-2-炔-1-酮的合成 取干燥的 100 mL Schlenk 管,分别加入 2-溴-4-甲氧基苯甲酰氯(1 050 mg, 4.79 mmol)和苯乙炔(488 mg, 4.0 mmol)溶于 10 mL 四氢呋喃与 8 mL 三乙胺的混合溶液中,冻抽 1 次,加入碘化亚铜(18 mg, 0.08 mmol)、二氯二(三苯基膦)钯(33.8 mg, 0.04 mmol),冻抽 3 次,室温反应 24 h。加入 10 mL 甲醇淬灭反应,旋干溶剂,用 50 mL 乙酸乙酯溶解,依次用水、5%(质量分数)稀硫酸、饱和碳酸氢钠溶液、饱和食盐水洗涤,旋蒸除去多余溶剂,以 *V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=95:5 极性柱层析分离。产物为黄褐色油状液体,产量 657 mg,产率 43.6%。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 3.90 (s, 3H, -CH₃), 7.18 (dd, *J* = 2.6 Hz, *J* = 8.0 Hz, 1H, Ph-H), 7.38 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, Ph-H), 7.53 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, Ph-H), 7.60 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ph-H), 7.76 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, Ph-H)。

1.3.3 2-苯基-6-甲氧基-3-硒杂黄酮的合成 分别取硒(174 mg, 2.20 mmol)、硼氢化钠(104 mg, 2.75 mmol)置于干燥的 100 mL Schlenk 管中,真空泵抽气 1 min,加入 10 mL DMF 中,100 °C 反应 1 h,将 1-(4-甲氧基-2-溴苯基)-3-苯基丙-2-炔-1-酮(578 mg, 1.83 mmol)溶于 8 mL DMF 中,并缓慢滴入反应体系中,100 °C 反应 3 h。加入 50 mL 水淬灭反应,以乙酸乙酯萃取,有机相用饱和食盐水洗涤,旋干溶剂,以 *V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=10:1 极性柱层析分离。产物为黄褐色油状液体,产量 293.6 mg,产率 44.6%。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 3.91 (s, 3H, -CH₃), 7.18 (dd, *J* = 2.5 Hz, *J* = 9.0 Hz, 1H, Ph-H), 7.29 (s, 1H, Ph-H), 7.57 (dd, *J* = 1.89 Hz, *J* = 4.9 Hz, 3H, Ph-H), 7.63 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ph-H), 7.73 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, Ph-H), 8.36 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, Ph-H)。

1.3.4 M-Se-F 的合成 取 2-苯基-6-甲氧基-3-硒杂黄酮(1 170 mg, 3.71 mmol)置于干燥的 100 mL Schlenk 管中,用 25 mL 四氢呋喃溶解,冻抽 3 次,缓慢滴入 1 mol/L MeMgBr 的四氢呋喃溶液(13.0 mL, 13.0 mmol),40 °C 避光反应 18 h。反应液冷却后,旋蒸浓缩至溶剂剩余 2~3 mL,加入 30 mL、20%(质量分数)高氯酸溶液,有固体析出。冰浴 15 min,抽滤,用二氯甲烷洗涤至固体几乎不减少,收集有机滤液,旋蒸浓缩至无液体残留,加二氯甲烷至固体恰好完全溶解,边滴加石油醚边剧烈搅拌至有大量固体析出,抽滤,用少量二氯甲烷洗去棕色杂质,尽可能刮取橙色固体,干燥称重。操作过程中严格控制二氯甲烷和石油醚的用量。产量 450 mg,产率 29.3%。¹H-NMR (400 MHz,

DMSO- d_6 , δ): 3.14 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 4.15 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 7.73 (m, Ph-H), 7.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, Ph-H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, Ph-H), 8.30 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, Ph-H), 8.66 (s, 1H, Ph-H)。

1.3.5 M-Se-F-N 的合成 分别取 MeO-Se-F (50 mg, 0.121 mmol)、对二甲氨基苯甲醛 (18 mg, 0.121 mmol) 置于干燥的 10 mL Schlenk 管中, 用 2 mL 正丁醇与 1 mL 甲苯溶解, 冻抽 3 次, 避光加热回流 11 h。冷却后抽滤, 用石油醚洗涤滤饼, 得到 17 mg 绿色粉末, 产率 26.4%。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3CN , δ): 3.26 (s, 6H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.03 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 6.97 (d, 2H, $J = 9.2$ Hz, Ph-H), 7.40 (dd, $J = 2.7$ Hz, $J = 9.4$ Hz, 1H, Ph-H), 7.68 (m, 3H, Ph-H), 7.73 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, Ph-H), 7.92 (dd, $J = 1.1$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 2H, Ph-H), 7.97 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, $=\text{CH}-$), 8.03 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H, $=\text{CH}-$)。

2 结果与讨论

2.1 M-Se-F-N 的合成

目前, 以黄酮为母体的染料主流合成方法为 C 环化缩合法^[18-22]。该方法具有合成路径简便、步骤精简的特点, 当原料结构较为简单时, 不仅反应选择性优异, 而且产率表现突出, 是一类高度成熟的黄酮染料合成技术。然而, C 环化缩合法合成黄酮的关键步骤依赖于黄酮骨架中 A 环与 B 环官能团(如图 1 所示)的羟醛缩合反应, 该反应需由 A 环酚羟基引发, 且环化完成后会在 C 环共轭体系中保留一个嵌入骨架的氧原子。由于该骨架结构稳定性极高, 难以破坏, 导致本文提出的将黄酮染料 C 环氧原子替换为硒原子的设计思路面临实现障碍。

若要将硒原子嵌入黄酮染料共轭骨架内部, 需在合成初期阶段就引入硒元素。这一方面限制了黄酮骨架构建方式的选择范围, 另一方面, 由于将硒原

子引入共轭骨架结构中, 会显著改变黄酮染料前体的化学性质——不仅降低活泼反应位点的活性, 还会削弱其在强酸碱环境中的稳定性, 进而对后续修饰步骤设计的选择形成制约。

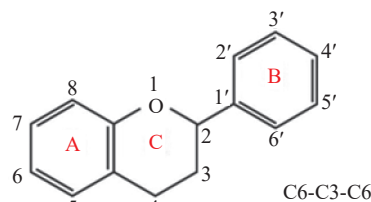


图 1 黄酮骨架结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the flavonoid skeleton structure

综合考虑上述因素对反应路线的影响, 为有效合成硒掺杂 D- π -A 结构黄酮类半菁染料, 在充分参考同类染料 C 环化缩合法合成路线^[23]的基础上, 结合硒元素引入前后的染料性质变化, 我们最终选择基于格氏反应法^[24]的合成策略。具体合成路径如图 2 所示。首先, 在碱性条件下, 将 2-溴-4-甲氧基苯酰氯转化为苯炔酮; 随后, 以硼氢化钠为还原剂, 将单质硒转化为具有亲核性的 NaSeH, 使其与溴原子发生亲核取代反应并随后进攻炔基, 构建硒杂黄酮环化合物; 继而利用高活性的格氏试剂, 将引入硒原子后亲电活性降低的环羰基转化为活泼甲基; 最后通过 Knoevenagel 反应与供电子单元连接, 获得 D- π -A 结构的硒杂黄酮染料。通过分析核磁共振氢谱与高分辨质谱结果, 证实该合成路线成功制备了目标化合物 M-Se-F-N。

由于硒原子与氧原子的性质差异显著, M-Se-F-N 合成路线中各中间化合物的合成条件及产率与其非重元素替换母体化合物 F-N 存在较大差距。以化合物 M-Se-F 的合成为例, 在不使用硒原子替换氧原子时, 对应化合物可通过格氏试剂反应后水解、低温过滤直接得到, 但在引入硒原子后, 由于硒原子与氧

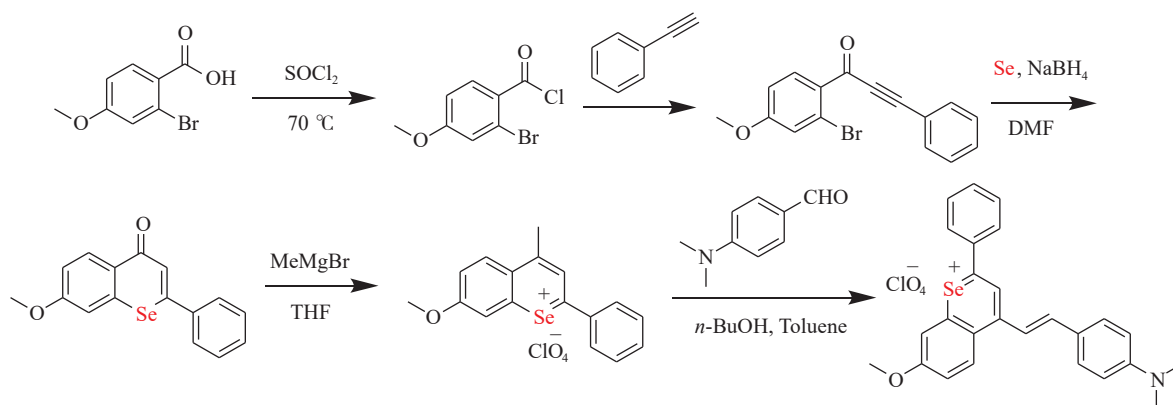


图 2 M-Se-F-N 的合成路线

Fig. 2 Synthetic route of M-Se-F-N

原子的电子效应差异,2-苯基-6-甲氧基-3-硒杂黄酮中羰基活性降低、M-Se-F 的稳定性变差,使得目标产物与大量棕色副产物杂质混杂在一起,难以分离得到目标产物。同时,M-Se-F 会在硅胶作用下分解,使得其难以通过传统柱层析方法实现进一步纯化。经过进一步分析和研究,本文最终通过以二氯甲烷为良溶剂、石油醚为不良溶剂进行打浆的方式成功纯化得到 M-Se-F,并通过严格控制溶剂用量和打浆温度等方式,成功将反应产率由 17% 提升至近 30%。反应路线中其他步骤的反应条件同样依据硒替换化合物的反应性能进行优化调整,最终实现目标化合物 M-Se-F-N 的成功制备。

2.2 M-Se-F-N 的理性设计与波长拓展

本文设计并优化了以下硒掺杂长波长黄酮衍生物染料的合成方案。首先,明确以黄酮骨架为母体构建 D- π -A 型染料的合成目标分子,可将分子结构构成分为供体单元、受体单元及共轭连接体三部分。在借鉴黄酮类染料格氏试剂法^[25]合成硒杂黄酮衍生物 M-Se-F 的基础上,尝试参照菁染料合成原理^[26],以甲氧基取代黄酮母体为供体端、N-甲基吡啶为受体端,构建具有长共轭链的 Cy3 型硒杂半菁染料。

但由于硒元素电负性显著低于氧元素,M-Se-F 中活性甲基所受吸电子效应弱于氧杂环,导致反应活性大幅下降:在乙酸钠、DTBMP(2,6-二叔丁基-4-甲基吡啶)等弱碱催化下,甲基活性不足以引发缩合反应;而使用三乙胺等强碱催化时,相对低键能的 C-Se 键容易被强亲核基团破坏,导致反应底物分解。

对溶剂、催化剂及反应条件进行优化筛选,通过结构调控策略实现目标染料的合成:以 *N,N*-二甲基对苯甲醛作为反应物,以其醛基的高活性补偿 M-Se-F 的甲基活性缺陷;将黄酮基团作为受体单元、醛部分作为供体单元,构建具有 D- π -A 结构的硒杂黄酮染料 M-Se-F-N,同时黄酮母体部分保留正电荷。

具有 D- π -A 结构的染料其光学性质受官能团推拉电子效应显著调控,是由于该染料共轭体系电子云分布易受溶剂极性影响。对 M-Se-F-N 的溶剂效应研究(图 3(b))表明,M-Se-F-N 在水中因溶解性差形成聚集体,最大吸收峰位于 550 nm;而在非极性溶剂中,由于溶解度改善,其吸光度增强且最大吸收峰红移至 735 nm,最长波长大于 800 nm,进一步证实了重原子掺杂与大共轭体系构建长波长染料策略的有效性。

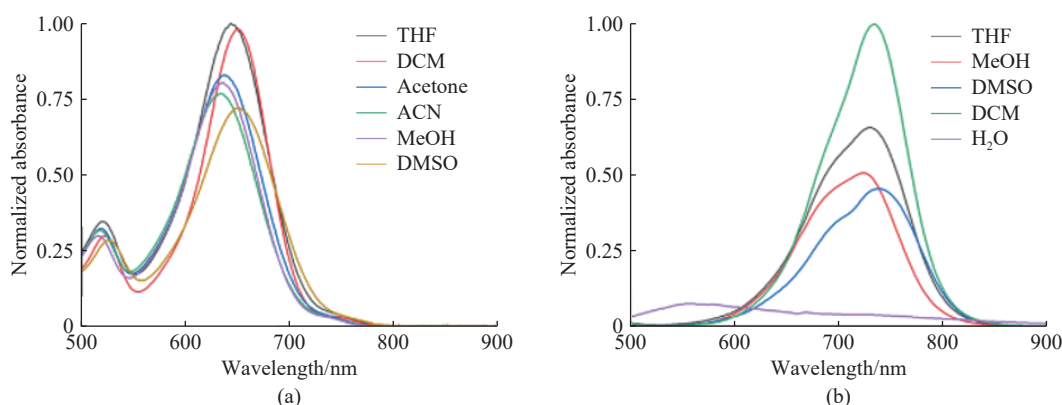


图 3 (a) F-N 在几种常见溶剂中的吸收光谱; (b) M-Se-F-N 在几种常见溶剂中的吸收光谱

Fig. 3 (a) Absorption spectra of F-N in several common solvents; (b) Absorption spectra of M-Se-F-N in several common solvents

2.3 M-Se-F-N 与核酸的特异性结合

通过 M-Se-F-N 在核酸环境中的吸收光谱动态变化,系统验证了其 RNA 的特异性结合能力(图 4)。在水相体系中,M-Se-F-N 表现出显著的聚集倾向性,溶液中形成大量纳米级悬浮聚集体,其吸收光谱在 560 nm 处呈现宽吸收特征峰。随着核酸质量浓度递增,M-Se-F-N 吸收光谱发生显著红移,聚集体对应的宽峰强度逐渐衰减,同时在 750 nm 处出现由 RNA 特异性结合诱导的新生吸收峰。值得注意的是, RNA 质量浓度变化引发的吸收强度响应幅度是 DNA 的 2 倍以上,结合前后吸收峰位移达 200 nm,

这一特征为激活型光热治疗提供了理想的光谱调控基础。

该特异性结合特性可通过双重机制实现精准光热治疗:(1)选用长波长激光光源(如 808 nm 近红外光),仅与 RNA 结合后的 M-Se-F-N 被激发,有效规避游离染料对健康组织的光热损伤;(2)利用癌细胞代谢活跃导致的 RNA 高表达特性,M-Se-F-N 通过 RNA 靶向结合实现在癌细胞内的高效富集。实验数据表明,该机制可使光热治疗的靶向准确率显著提升,同时将脱靶光毒性降低,为乏氧肿瘤的精准确治疗提供了兼具高选择性和安全性的新型染料设计策略。

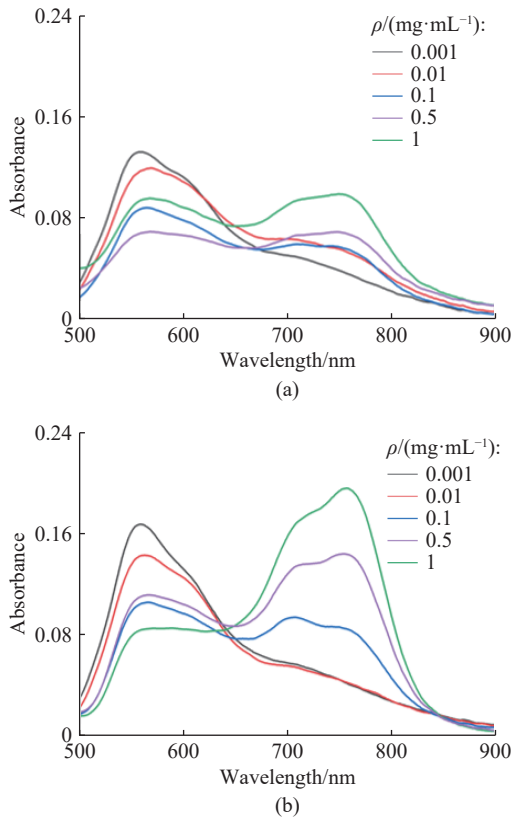


图 4 M-Se-F-N 在 DNA (a) 和 RNA (b) 存在时的吸收光谱
Fig. 4 Absorption spectra of M-Se-F-N with DNA (a) and RNA (b)

2.4 M-Se-F-N 的体外光热性能测试

基于 M-Se-F-N 与 RNA 结合后吸收波长红移的特性,本文以 808 nm 近红外激光器为激发光源,系统开展了含硒与无硒染料的光热性能对比研究,并考察了 RNA 存在与否对 M-Se-F-N 光热效应的调控作用(图 5(a))。实验数据表明:未掺杂硒元素的黄酮染料 F-N 在 808 nm 激光(1.5 W/cm^2)照射下几乎无光热响应;游离状态的 M-Se-F-N 仅表现出微弱光热效应(温升 $< 3 \text{ }^\circ\text{C}$);而当 M-Se-F-N 与 RNA 特异性结合后,其吸收光谱红移(波长 $> 800 \text{ nm}$),可有效吸收

808 nm 激光能量,使溶液温度从 $(26 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ 快速升至 $(53 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$, 达到光热治疗的有效温度区间。

光热循环稳定性测试显示,经历 3 次“光照-冷却”循环后,体系最高温度保持一致 $(53 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, 证实 M-Se-F-N 在光热过程中未发生分解。进一步的光稳定性实验结果(图 5(b))表明,经光密度为 1.5 W/cm^2 激光持续照射 12 h 后, M-Se-F-N 的吸收强度仍维持初始值的 80%, 该特性不仅实现了“RNA 靶向激活-光热杀伤”的精准治疗模式,而且其优异的光热稳定性亦为临床长时间持续治疗提供了可能。

2.5 M-Se-F-N 的细胞毒性研究

为系统评估 M-Se-F-N 在生理环境中的细胞毒性,采用经典 MTT 法开展实验研究。该方法基于活细胞线粒体琥珀酸脱氢酶可将外源性 MTT 还原为水不溶性蓝紫色甲瓞结晶(Formazan)并沉积于细胞内,而相比之下死细胞不具备此代谢功能的原理。实验中设置 0、2、4、6、8、10 $\mu\text{mol/L}$ 共 6 个浓度梯度,将 HeLa 细胞以 $5 \times 10^3 \text{ cells/孔}$ 密度接种于 96 孔板,经培养 24 h 后加入不同浓度的 M-Se-F-N 溶液,再继续孵育 24 h。随后每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL , $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 避光孵育 4 h, 弃去培养基后加入 150 μL DMSO 溶解甲瓞结晶,使用酶标仪检测 490 nm 处吸光度值,该信号强度与细胞活性呈现正相关。

实验结果(图 6)表明:随着 M-Se-F-N 浓度升高,HeLa 细胞活性基本呈下降趋势,但当浓度超过 $6 \mu\text{mol/L}$ 后,细胞存活率稳定维持在 80% 左右,不再显著降低。这一现象可能源于高浓度下 M-Se-F-N 在水相体系中自聚集形成纳米聚集体,导致细胞摄取效率降低,进而使细胞毒性趋于平台期。值得注意的是,即使在 $10 \mu\text{mol/L}$ 高浓度下孵育 24 h, HeLa 细胞存活率仍保持 80% 以上,表明在无光源激发条件下, M-Se-F-N 展现出优异的生物相容性,不会对正常组织

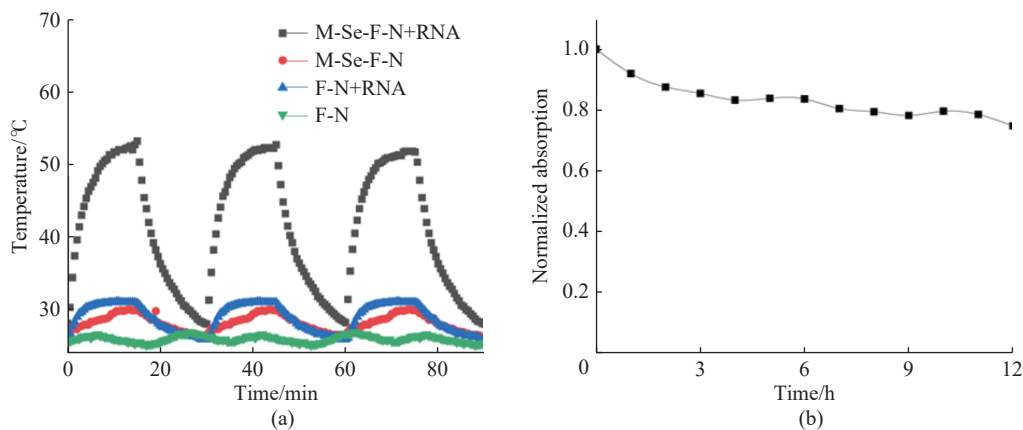


图 5 M-Se-F-N 的光热性能: (a) 不同染料的光热-冷却循环曲线; (b) M-Se-F-N 的光热稳定性

Fig. 5 Photothermal properties of M-Se-F-N: (a) Photothermal-cooling cycle curves of different dyes; (b) Photothermal stability of M-Se-F-N

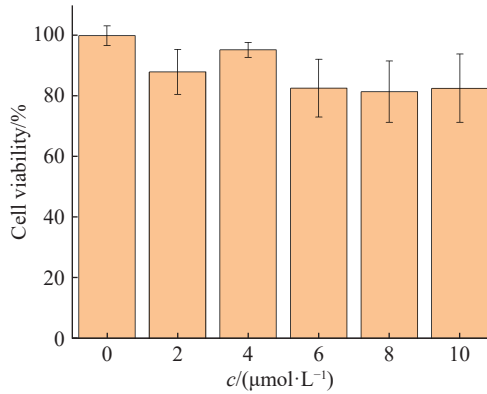


图6 M-Se-F-N的细胞毒性

Fig. 6 Cytotoxicity of M-Se-F-N

细胞造成损伤,进一步证实了 M-Se-F-N 具有低细胞毒性的显著优势。

2.6 M-Se-F-N 的光热杀伤效果验证

为验证 M-Se-F-N 的光热细胞杀伤效应,本研究设计活/死细胞双染色实验,通过共聚焦激光扫描显微镜(CLSM)直观观察 HeLa 细胞在 808 nm 激光照射后的存活状态。实验采用 Calcein AM/EthD-1 双染色体系: Calcein AM 可透过活细胞膜并被酯酶水解产生绿色荧光($\lambda_{em}=517\text{ nm}$), EthD-1 仅能进入死细胞

与 DNA 结合发出红色荧光($\lambda_{em}=635\text{ nm}$)。具体实验操作如下:将 HeLa 细胞以 5×10^3 cells / 孔的密度接种于共聚焦培养皿,孵育 24 h 后加入 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ M-Se-F-N 继续培养 4 h,随后用 808 nm 激光(1.5 W/cm^2)照射 10 min。染色时先用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,加入含 $2\text{ }\mu\text{mol/L}$ Calcein AM 和 $4\text{ }\mu\text{mol/L}$ EthD-1 的染色液,于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 避光孵育 15 min,最后用共聚焦显微镜采集细胞图像(激发波长分别为 488 nm 和 561 nm)。

实验结果(图 7)显示:未光照组(Light(-))或仅光照未与染料共孵育组(M-Se-F-N(-), Light(+))的 HeLa 细胞呈现均匀绿色荧光,仅少数细胞因染料聚集导致荧光强度减弱,几乎无红色荧光细胞(死亡细胞数 $<5\%$);而经 M-Se-F-N 孵育+激光照射的实验组(最右列)中,光照区域内 40% 以上的细胞呈现红色荧光,且死亡细胞呈区域性分布——仅在激光光斑覆盖区域(直径 5 mm)观察到密集红色荧光,非光斑区域细胞存活率高于 90%。上述结果证实 M-Se-F-N 的光热杀伤效果依赖于激光激发与 RNA 靶向结合的协同作用。

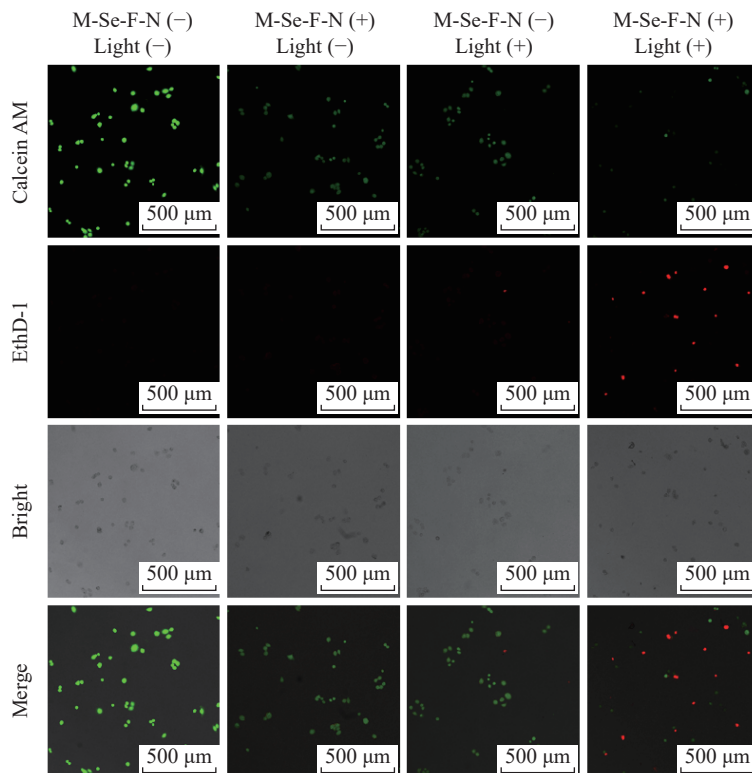


图7 HeLa 细胞与 PBS 和 M-Se-F-N(20 mmol/L)孵育 3 h,在有/无激光器照射(1.5 W/cm^2 , 808 nm , 1200 s)下, Calcein AM 和 EthD-1 共染色的荧光图像

Fig. 7 Fluorescence images of HeLa cells co-stained with Calcein-AM and EthD-1 after incubation with PBS and M-Se-F-N (20 mmol/L) for 3 h and then treated with or without laser irradiation (1.5 W/cm^2 , 808 nm , 1200 s)

3 结束语

本研究以黄酮骨架为染料母体, 针对黄酮染料的波长受限问题, 通过利用硒原子取代氧原子, 构建了含硒的杂化共轭体系, 通过优化合成路线获得长波长染料 M-Se-F-N, 其吸收光谱拓展至 800 nm。随后, 利用 M-Se-F-N 与 RNA 的特异性结合及长波长吸收特性, 实现 808 nm 激光激发下对 HeLa 细胞的高选择性光热杀伤, 为光热试剂设计提供新思路。

后续研究可从以下角度展开: 研究重原子引入对黄酮染料其他官能团性质的影响, 进一步研究染料的 pH 敏感性等性质, 并开发新的生物应用。同时, 基于重元素效应对单线态与三线态激发态分子生成效率的影响, 可以进一步深入研究硒元素替换染料的潜在光动力治疗潜力。此外, 通过重元素替换策略向原有的经典染料结构中引入重原子, 可在对原染料空间结构改变极小、不改变其特异性识别能力的前提下为其附加光疗效果, 实现由治疗探针向诊疗一体探针的转变, 进一步拓展原有经典染料结构的应用范围。

参考文献:

- [1] TONI N, DIADDIN H, CHRISTOPHE L, *et al.* Targeting cancer stem cells to overcome chemoresistance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(12): 4036.
- [2] ZHOU J, LU Z, ZHU X, *et al.* NIR photothermal therapy using polyaniline nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(37): 9584-9592.
- [3] 赵子伟, 池哲人, 孙奇奇, 等. 负载钡簇的氧化硅基杂化胶束的制备及性能 [J]. *华东理工大学学报(自然科学版)*, 2023, 49(4): 498-507.
- [4] LI X, LOVELL J F, YOON J, *et al.* Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2020, 17(11): 657-674.
- [5] SONG J, YANG X, JACOBSON O, *et al.* Ultrasmall gold nanorod vesicles with enhanced tumor accumulation and fast excretion from the body for cancer therapy[J]. *Advanced Materials*, 2015, 27(33): 4910-4917.
- [6] HUANG J, GUO M, KE H, *et al.* Rational design and synthesis of $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3@Au$ magnetic gold nanoflowers for efficient cancer theranostics[J]. *Advanced Materials*, 2015, 27(34): 5049-5056.
- [7] ZHANG Y, LI J, JIANG H, *et al.* Rapid tumor bioimaging and photothermal treatment based on GSH-capped red fluorescent gold nanoclusters[J]. *Royal Society of Chemistry Advances*, 2016, 6(68): 63331-63337.
- [8] MARTA O, ROBERT A W, BRIAN C. W, *et al.* Photodynamic and photothermal therapies: Synergy opportunities for nanomedicine[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(9): 7979-8003.
- [9] GAI S, YANG G, YANG P, *et al.* Recent advances in functional nanomaterials for light-triggered cancer therapy[J]. *Nano Today*, 2018, 19: 146-187.
- [10] INMAN C, LOURITH N, KANLAYAVATTANAUL M. Alternative application approach on black bean: Hair coloring product[J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2020, 7(2): 1-7.
- [11] ARIPIN T, NORA'AINI A, HASIAH S, *et al.* Development of natural dye photosensitizers for dye-sensitized solar cells: A review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2024, 31: 31679-31690.
- [12] MAURYA I C, NEETU, GUPTA A K, *et al.* Natural dye extracted from saraca asoca flowers as sensitizer for TiO_2 -based dye-sensitized solar cell[J]. *Journal of Solar Energy Engineering-Transactions of the ASME*, 2016, 138: 1-6.
- [13] 罗知微, 顾丽芸, 韩伟, 等. 基于网络药理学和设计空间优化黄芩提取工艺 [J]. *华东理工大学学报(自然科学版)*, 2024, 50(2): 221-230.
- [14] SHEN N, WANG T, GAN Q, *et al.* Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity[J]. *Food Chemistry*, 2022, 383(30): 132531.
- [15] SUN H, DING R, LV S, *et al.* Clustering-triggered ultralong room-temperature phosphorescence of organic crystals through halogen-mediated molecular assembly[J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2020, 11(13): 4962.
- [16] ZHANG Y, ZHAO M, MIAO J, *et al.* Hemicyanine-based type I photosensitizers for antihypoxic activatable photodynamic therapy[J]. *ACS Materials Letters*, 2023, 5(11): 3058-3067.
- [17] ZHOU W, CHEN Y, ZHANG Y, *et al.* Iodine-rich semi-conducting polymer nanoparticles for CT/fluorescence dual-modal imaging-guided enhanced photodynamic therapy[J]. *Small*, 2020, 16(5): 1905641.
- [18] JACKSON M I, COMBS G F. Selenium as a Cancer Preventive Agent. Selenium: Its Molecular Biology and Role in Human Health [M], 3rd ed. London, UK: Springer, 2012: 313-323.
- [19] ZHAI W, ZHANG Y, LIU M, *et al.* Universal scaffold for an activatable photosensitizer with completely inhibited photosensitivity[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(46): 16601-16609.
- [20] LUIS C, NUNO B, NUNO M, *et al.* Natural and synthetic flavylum-based dyes: The chemistry behind the color[J]. *Chemical Reviews*, 2022, 122(1): 1416-1481.
- [21] PERKIN W, ROBINSON R, TURNER M R. The synthesis

- and constitution of certain pyranol salts related to brazilin and haematein[J]. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1908, 93: 1085-1115.
- [22] PRATT D. D, ROBINSON R. A synthesis of pyrylium salts of anthocyanidin type[J]. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1922, 121: 1577-1585.
- [23] PRATT D D, ROBINSON R. A synthesis of pyrylium salts of anthocyanidin type: Part V. The synthesis of cyanidin chloride and of delphinidin chloride[J]. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1925, 127: 166-175.
- [24] ROBERTSON A, ROBINSON R. Experiments on the synthesis of anthocyanins: Part I[J]. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1926, 129: 1713-1722.
- [25] ROEHRI-STOECKEL C, GONZALEZ E, FOUGEROUSSE A. Synthetic dyes: Simple and original ways to 4-substituted flavylum salts and their corresponding vitisin derivatives[J]. *Canadian Journal of Chemistry*, 2001, 79(7): 1173-1178.
- [26] BROOKER L G S, KEYES G H, WILLIAMS W W. Color and constitution: V. 1. The absorption of unsymmetrical cyanines. Resonance as a basis for a classification of dyes[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1942, 64(2): 199-210.

Construction of Selenium-Substituted Flavonoid Dyes and Their Photothermal Properties

ZHAO Xingyuan, YAN Chenxu, GUO Zhiqian

(Institute of Fine Chemicals, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: Phototherapy has emerged as a research hotspot in cancer treatment owing to its advantages of high selectivity and low invasiveness; however, the wavelength range and targeting precision of dyes remain key bottlenecks limiting their clinical application. Taking advantage of the heavy-atom effect, this study used flavonoid dyes as the parent structure and developed a novel long-wavelength dye M-Se-F-N via structural modification by substituting oxygen atoms with selenium atoms, thereby providing a new solution for the upgrading of photothermal therapy technology. The dye adopts a D- π -A conjugated structure, and its maximum absorption wavelength exceeds 800 nm after specific binding to RNA, which effectively covers the near-infrared theranostic window. By leveraging the physiological characteristic of high RNA expression in cancer cells, M-Se-F-N can achieve precise enrichment at tumor sites, and under excitation with an 808 nm laser, it rapidly elevates the local temperature to approximately 53 °C, which falls within the effective therapeutic range, enabling highly selective photothermal ablation of HeLa cells with minimal off-target toxicity. Furthermore, this dye exhibits excellent photothermal stability and good biocompatibility, and through structural innovation, this work breaks through the performance limitations of traditional flavonoid dyes, provides new insights into the development of photothermal agents with both targeting capability and high safety, and holds promising potential for promoting the clinical translation of phototherapy in the precise treatment of hypoxic tumors.

Key words: flavonoid dye; selenium; photothermal therapy; RNA probe; near infrared; D- π -A

(责任编辑: 张欣)