一种近红外吸收的阳离子型光敏剂用于高效抗耐药菌研究

李　那[1], 吕　阳[2], 后际挺[2], 沈建良[1*]

(1. 右江民族医学院基础医学院, 广西 百色 533000;　2. 温州医科大学附属眼视光医院, 浙江 温州 325027)

摘要: 随着抗生素的广泛使用, 耐药菌的出现与传播已成为全球公共卫生领域的重大威胁。小分子光动力抗菌疗法凭借其独特的作用机制, 在抗耐药菌治疗中展现出巨大的潜力, 但具有更高组织穿透性的近红外吸收小分子光敏剂仍然少有报道。本研究基于香豆素-花色素杂化结构开发一种具有近红外吸收的阳离子型小分子光敏剂香豆素-花色素苷 (coumarin-flavylium, CF), 展现出优异的抗耐药菌性能。通过紫外−可见吸收光谱、荧光发射光谱等表征CF的结构; 利用平板涂布法评价了CF对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 的抗菌效果, 借助扫描电镜、LIVE/DEAD™染色等实验评价了CF对MRSA的抗菌效果。实验结果表明, CF具有较低的细胞毒性, 在近红外光照 (660 nm)、低剂量 (0.5 μmol·L^{-1}) 及低光强 (20 mW·cm^{-2}) 的条件下, 展现出显著的抗菌效果 (灭菌效率 > 99%), 且能有效去除生物膜。该光敏剂有望成为应对耐药菌感染的强有力工具。

关键词: 光动力抗菌疗法; 近红外吸收; 阳离子型光敏剂; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

中图分类号: R943　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2026)02-0636-07

An NIR-absorbed cationic photosensitizer for high-efficacy eradication of drug-resistance bacteria

LI Na[1], LV Yang[2], HOU Ji-ting[2], SHEN Jian-liang[1*]

(*1. Basic Medical College of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China;　2. Eye Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China*)

Abstract: With the widespread use of antibiotics, the emergence and spread of drug-resistant bacteria have become a major threat in the global public health field. Small-molecule photodynamic antimicrobial therapy has shown great potential in the treatment of drug-resistant bacteria due to its unique mechanism of action, but small-molecule photosensitizers with near-infrared absorption, which have higher tissue penetration, are still rarely reported. In this study, a cationic small-molecule photosensitizer coumarin-flavylium (CF) with near-infrared absorption was developed, which exhibits excellent anti-drug-resistant bacteria performance. The structure of CF was characterized by ultraviolet-visible absorption spectroscopy, fluorescence emission spectroscopy, *etc.* The antibacterial effect of CF against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was evaluated by the plate coating method, and the antibacterial effect of CF against MRSA was also assessed by experiments such as scanning electron microscopy and LIVE/DEAD™ staining. The experimental results show that CF has low cytotoxicity, and under the conditions of near-infrared light irradiation (660 nm), low dose (0.5 μmol·L^{-1}) and low light intensity (20 mW·cm^{-2}), it exhibits significant antibacterial effect (sterilization efficiency > 99%) and can effectively remove biofilms. This photosensitizer is expected to become a powerful tool to deal with drug-resistant bacterial infections.

Key words: photodynamic antibacterial therapy; near-infrared absorption; cationic photosensitizer; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

收稿日期: 2025-07-22;　修回日期: 2025-09-15.

*通讯作者 Tel: 13157372733, E-mail: shenjl@wiucas.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0857

细菌感染已成为全球第二大死亡原因, 是威胁人类健康的重大难题[1], 对医疗资源和社会经济造成了沉重的负担。在过去的80年里, 抗生素为治疗细菌感染扮演了至关重要的角色[2]。抗生素能够有效控制多种细菌感染, 主要通过破坏细菌细胞壁和细胞膜的完整性、抑制蛋白质和核酸的合成与分裂过程来降低细菌的增殖能力[3]。但随着抗生素的滥用, 细菌也在不断"升级进化", 耐药性越来越强, 导致抗生素的威力大打折扣[4-6]。更糟糕的是, 滥用抗生素还会引发一系列毒副作用[7]。如今, 寻找新的抗菌方法, 摆脱对抗生素的过度依赖, 已经成了医学领域迫在眉睫的任务[8]。

光动力抗菌疗法 (antimicrobial photodynamic therapy, aPDT) 作为药械联合的创新治疗手段, 为解决细菌耐药性提供了一种强大策略[9]。其中, 有机小分子光敏剂在aPDT中运用广泛[10,11]。小分子光敏剂吸收光子, 跃迁至激发态单线态, 然后经过系间窜跃进入激发态三线态, 通过电子转移或者能量转移途径产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS)。ROS可以与细菌细胞膜或者内部生物大分子作用, 破坏其生理功能, 从而实现高效杀菌[12,13]。该方法特异性高、不良反应小, 不易产生耐药性, 已成为抗菌研究的热点方向[14-16]。然而, 当前多数光敏剂仍存在治疗浓度过高、对正常细胞毒性较大等问题, 临床应用中所需的激光强度与光照时长条件也较为严苛, 限制了其推广应用。此外, 大部分小分子光敏剂吸收波长位于可见光区, 难以实现深部组织杀菌[9,17]。因此, 急需开发具有近红外吸收的小分子光敏剂, 并以低剂量和低光强的特性实现高效清除耐药菌。基于上述需求, 本工作基于香豆素–花色素杂化结构报道了一种阳离子型化合物香豆素–花色素苷 (coumarin-flavylium, CF), 能够在低剂量条件下实现高效抗菌, 为攻克现有光动力抗菌疗法的技术难题提供了全新思路与解决方案。

材料与方法

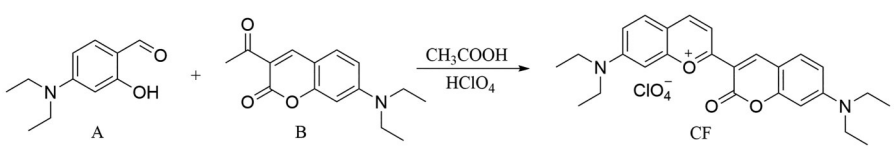
试剂与药品　胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、LIVE/DEAD™ BacLight™ Bacterial Viability Kit (2901556) 购自赛默飞世尔科技有限公司; 甲醇 (methanol, MeOH, 梯度级)、乙腈 (acetonitril, MeCN, 色谱级)、四氢呋喃 (tetrahydrofuran, THF, 色谱级)、甘油 (glycerol, 色谱级) 购自北京伊诺凯科技有限公司; 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO, 色谱级, 上海阿达玛斯试剂有限公司); 二氯甲烷 (dichloromethane, DCM, 色谱级, 安耐吉化学科技有限公司); cell counting kit-8 (CCK-8, 119, 美国GlpBio Technology, Inc.)。

主要仪器　紫外可见分光光度计 (TU-1901, 上海沪粤明科学仪器有限公司); 荧光光谱仪 (fluoro max-4, 美国Horiba公司); 共聚焦激光扫描显微镜 (A1, 日本Nikon公司); 核磁共振波谱仪 (QUANTUM-I-400 MHz, 武汉中科牛津波谱技术有限公司); 场发射扫描电镜 (SU8010, 日本HITACHI公司)

化合物CF的合成　CF的合成方法如合成路线1所示。将化合物A (97 mg, 0.5 mmol) 和化合物B (130 mg, 0.5 mmol) 溶于冰醋酸 (4 mL), 室温下搅拌至固体完全溶解。然后在反应混合溶液中加入1 mL 75% $HClO_4$ 溶液, 并升温至110 ℃回流。反应6 h后, 冷却反应液至室温, 并将反应液倒入冰水中, 析出沉淀。抽滤, 滤渣经水清洗及烘箱干燥, 得黑色固体粉末160 mg。产率: 62%。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$-*d*) δ_H: 9.35 (s, 1H), 8.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.07 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 3.69 (d, *J* = 7.7 Hz, 4H), 3.52 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.36 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$-*d*) δ_C: 164.00, 159.02, 158.79, 158.57, 156.10, 148.19, 146.95, 134.91, 131.67, 117.71, 116.86, 111.72, 110.96, 97.72, 96.55, 46.49, 45.97, 12.77, 12.67; ESI-MS: *m*/*z*: Calcd. for $C_{26}H_{29}N_2O_3^+$ 417.217 3, found 417.217 1。

化合物CF的表征　将光敏剂母液和不同溶剂依次加入1 cm光程长的石英比色皿中, 搅拌摇匀配置成3 mL测试液。光敏剂终浓度为10 μmol·L^{-1}。其中10 μmol·L^{-1}指溶液中溶质物质的量与溶液体积的比值, 即每升溶液中含有10微摩尔的溶质。在室温下分别扫描不同溶剂中下光敏剂的吸收光谱与荧光发射光谱。

化合物CF的抗菌性能检测　挑取单个耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 菌落至胰酪大豆胨液体培养基 (tryptic



Scheme 1　Synthesis route of compound coumarin-flavylium (CF)

soy broth, TSB) 中, 并在 37 ℃摇床活化至对数生长期; 将活化后的菌悬液稀释至 1×10^6 CFU·mL^{-1}, 作为后续实验的标准菌液。先将配制好的光敏剂母液用 TSB 稀释至特定浓度; 再分别吸取等量的标准菌悬液, 对应加入各浓度的 CF 溶液中, 使混合液中光敏剂的终浓度为 0、0.2、0.5 和 1.0 μmol·L^{-1}, 随后充分混匀。使用近红外光 (660 nm, 20 mW·cm^{-2}) 照射 5 min, 以无光照组为对照。然后将标准菌液再次稀释至 1×10^3 CFU·mL^{-1}, 并取 30 μL 均匀涂板, 置于 37 ℃摇床中培养过夜, 第二天拍照计数。本实验重复 3 次。

化合物 CF 的细胞毒性评价 将大鼠皮肤成纤维样细胞 (rat skin fibroblasts cells, RS1) 培养于含 10% FBS 和 1% 青霉素−链霉素的 dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) 培养基中, 在 37 ℃、5% CO_2 的加湿培养箱中培养。培养过程中, 每隔一天更换一次培养基。

在无菌 96 孔板中接种稀释过的细胞悬液 100 μL, 每个孔中大约有 1×10^4 个 RS1 细胞。将接种好细胞的 96 孔板放在细胞培养箱中培育 24 h, 随后换掉细胞培养液, 加入含有不同浓度光敏剂 (0、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 μmol·L^{-1}) 的培养基 100 μL, 继续孵育 24 h。吸除旧培养基, 用以培养基稀释的 CCK-8 工作液置换, 每孔加入最终含量为 10% 的 CCK-8 培养液 (CCK-8∶培养基 = 1∶9)。孵育 30 min 后用酶标仪测定光敏剂在 450 nm 处的吸光度值, 并利用所得数据计算细胞存活率。实验重复 3 次。

扫描电镜 将各组处理过的菌液以 5 000 r·min^{-1} 转速离心 2 min 后, 磷酸盐缓冲液 (phosphate-buffered saline, PBS) 清洗 3 次, 2.5% 戊二醛固定过夜, 用 PBS 漂洗后, 使用梯度乙醇进行脱水, 干燥后喷金, 制作成标本后通过扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察细菌微观形态变化。

生物膜 LIVE/DEAD™ 细菌染色 将标准菌液浓度调整至 1×10^8 CFU·mL^{-1}。取无菌 24 孔细胞培养板, 每孔加入 100 μL 菌液, 37 ℃静置培养 16～24 h 后, 将配置好的光敏剂母液用 TSB 培养基稀释至所需浓度, 将多余培养基吸出, PBS 清洗两次, 于孔板中加入不同实验浓度的 CF 溶液, 并进行不同处理 (光照 5 min 或无光照)。避光孵育 30 min。避光条件下, 取成分 A 绿色荧光染料 SYTO 9 (SYTO 9 green fluorescent nucleic acid stain, SYTO 9) 和成分 B 碘化丙啶 (propidium Iodide, PI) 在 PBS 缓冲液中 (SYTO9∶PI∶PBS = 1∶1∶625) 充分混匀; 每孔取 200 μL 染液滴加于生物膜上, 避光孵育 15 min。

统计学方法 使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析。使用单因素方差分析 (one-way analysis of variance, ANOVA) 比较各组数据间的差异, $P < 0.05$ 表示各组之间的差异具有统计学意义。

结果

1 化合物 CF 的合成与光谱表征

化合物 CF 的制备方法简单, 无需柱色谱分离即可得到高纯度蓝色产品。通过核磁和高分辨质谱对 CF 进行表征后, 对其吸收光谱和荧光发射光谱进行了考察。选用常见的具有不同极性的 7 种溶剂作为测试体系: H_2O、DMSO、MeCN、MeOH、THF、DCM、glycerol。如图 1A 所示, 化合物 CF 在不同溶剂中的最大吸收峰分布于 600～700 nm 之间, 在近红外区域 (> 650 nm) 均有较强吸收, 可以被 660 nm 激光有效激发; 荧光光谱显示 (图 1B), 其荧光发射峰集中于 680～720 nm, 荧光强度表现出显著的溶剂依赖性: 在极性较强的溶剂 (水) 中, 荧光发射强度显著降低, 而在非极性溶剂中则相对增强。

2 化合物 CF 的光动力性能验证

采用非特异性 ROS 指示剂二氯二氢荧光素 (2′,7′-dichlorodihydrofluorescein, DCFH) 对 CF 在光照下的产氧性能进行检测。如图 2A 所示, 若无光照, DCFH

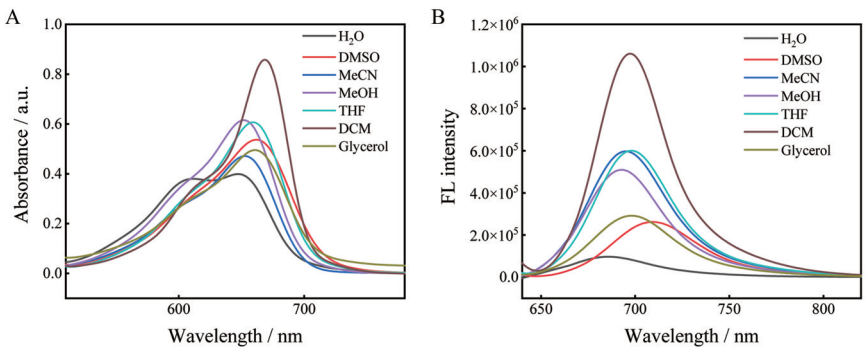


Figure 1 Characterization of CF. A: The ultraviolet absorption spectra of CF in different solvents; B: Fluorescence emission spectra of CF in different solvents. Excitation wavelength: 620 nm; Slit width: 5/5 nm. DMSO: Dimethyl sulfoxide; MeCN: Acetonitrile; MeOH: Methanol; THF: Tetrahydrofuran; DCM: Dichloromethane

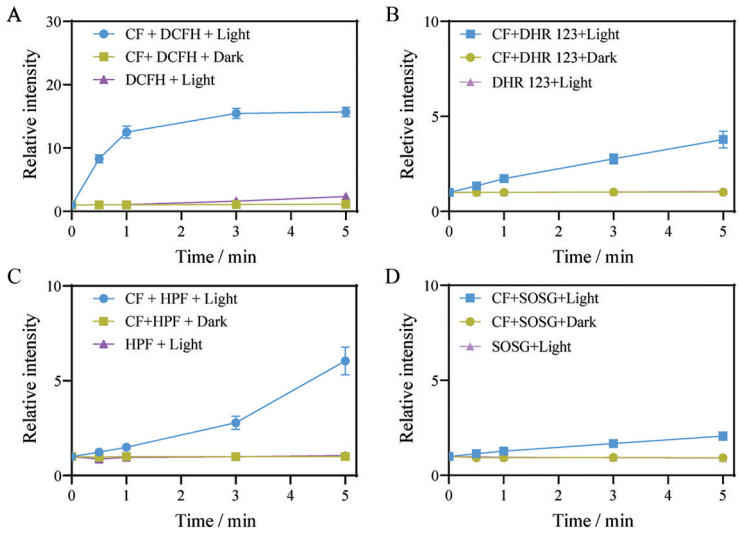


Figure 2　Detection of ROS production by CF after 5 min irradiation with a 660 nm laser (20 mW·cm^{-2}) using different indicators. A: DCFH (Ex 488 nm/Em 525 nm); B: DHR123 (Ex 488 nm/Em 525 nm); C: HPF (Ex 490 nm/Em 515 nm); D: SOSG (Ex 504 nm/Em 525 nm). ROS: Reactive oxygen species DCFH: 2′,7′-Dichlorodihydrofluorescein; DHR 123: Dihydrorhodamine 123; HPF: Hydroxyphenyl fluorescein; SOSG: Singlet oxygen sensor green

本身或者在CF存在下, 均无明显荧光增强; 而用近红外光 (660 nm, 20 mW·cm^{-2}) 照射后, DCFH 在 520 nm 处的荧光强度迅速增强, 并在 1 min 后基本达到平衡, 说明 CF 在近红外光照射下, 可以快速产生大量ROS并将DCFH氧化为具有强荧光的二氯荧光素。

为进一步明确化合物CF的产氧类型, 利用二氢罗丹明123 (dihydrorhodamine 123, DHR 123)、羟基苯基荧光素 (hydroxyphenyl fluorescein, HPF) 和单线态氧绿色探针 (singlet oxygen sensor green, SOSG) 3种特异性荧光指示剂, 分别对超氧自由基阴离子 ($O_2^{\bullet-}$)、羟基自由基 (·OH) 及单线态氧 ($^1O_2$) 的生成进行检测 (图2B～D), 其中SOSG用于检测$^1O_2$; HPF对·OH具有较高选择性; DHR 123则可用于检测$O_2^{\bullet-}$及其衍生的强氧化性物种。在光照条件下, 化合物CF主要促进 (·OH) 的持续产生 (图2C), 同时也检测到少量$O_2^{\bullet-}$和$^1O_2$的生成 (图2B、D)。其中·OH具有极强的氧化性, 能有效破坏细菌的细胞膜和生物大分子[18], $O_2^{\bullet-}$可以攻击细菌膜的不饱和脂肪酸, 引发链式反应生成丙二醛, 导致膜通透性增加, 膜脂质过氧化, 还可以氧化蛋白质 (优先氧化含硫氨基酸), 破坏酶活性和结构蛋白等对细菌直接造成氧化损伤, 并且可以与其他ROS协同抗菌[19,20]; $^1O_2$可直接氧化细菌的脂质、蛋白质和DNA, 导致细菌死亡[21-23]。这些特性使得CF有望成为一种高效的光敏剂。

随后, 利用量化计算对化合物CF的激发态行为进行了初步探讨。据报道, 当光敏剂的单线态S_1和三线态T_n之间的能隙绝对值≤ 0.3 eV, 即可发生有效的系间窜跃[24]。如图3所示, 化合物CF的S_1态和T_2态之间的能隙ΔE_{ST}为0.23 eV, 表明化合物CF在吸收近红外光跃迁至S_1态后, 能够轻易地从S_1态跃迁至T_2态, 从而通过电子转移或者能量转移方式产生各类ROS。

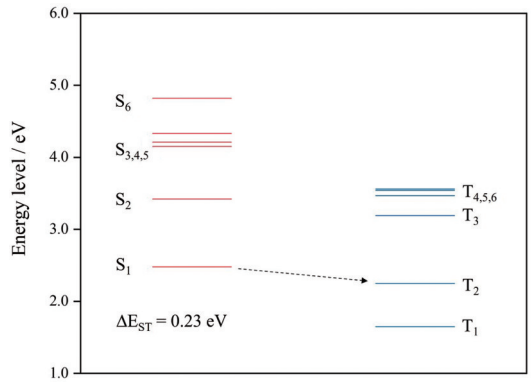


Figure 3　Energy levels (S_1–S_6, T_1–T_6) of CF

3　化合物CF的细胞毒性

图4所示, 细胞活力检测结果显示, 将RS1细胞与不同浓度CF共孵育24 h后, 各实验组细胞存活率均保持在90%以上, 与空白对照组 (0 μmol·L^{-1}) 相比无统计学显著差异 ($P > 0.05$)。该结果说明在0～2 μmol·L^{-1}浓度区间内, CF对RS1细胞的增殖代谢活动未产生明显抑制作用, 具有良好的生物相容性, 且在无光照条件下展现出极低的暗毒性。

4　化合物CF的体外抗菌研究

4.1　CF对MRSA的抗菌效能　为系统评估化合物

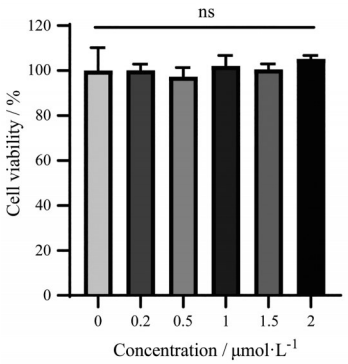


Figure 4 Safety evaluation of compounds. Cell viability of RS1 cells treated with CF at different concentrations for 24 h. RS1: Rat skin fibroblasts cells; ns: No significance

CF的光动力抗耐药菌效能, 本研究以常见耐药菌MRSA为模型菌种进行研究。多年来, MRSA一直是全球细菌感染的主要原因之一, 危害极大, 可引发多种感染, 如菌血症、上呼吸道和下呼吸道感染以及皮肤和软组织感染等, 且传播能力强, 治疗难度高[25]。其耐药性主要源于*mecA*基因编码的PBP2a蛋白, 对多种抗生素耐药, 甚至出现对“最后防线”药物的耐药性, 给临床治疗带来巨大挑战[26,27]。图5A展示了不同浓度CF (0、0.2、0.5、1 μmol·L^{-1}) 在近红外光 (660 nm, 20 mW·cm^{-2}, 5 min) 照射下的抗菌效果, 以无光照组作为对照。结果显示, 光照组中MRSA菌落数量随CF浓度升高呈递减趋势, 当CF浓度达到0.5 μmol·L^{-1}时, 培养基表面几乎无菌落形成; CF浓度相同时, 无光照组菌落数显著高于光照组。值得注意的是, 当浓度达到1 μmol·L^{-1}时, CF在无光照条件下对细菌具有一定的杀伤力。进一步对菌落形成单位 (colony forming units, CFU) 进行统计学分析 (图5B), 光照组抑菌率随CF浓度增加呈指数级提升, 0.5 μmol·L^{-1}时即达到100%杀菌效果 ($P < 0.000\ 1$)。基于上述结果, 后续扫描电镜与生物膜LIVE/DEAD^{TM}细菌染色实验均将CF浓度设定为0.5 μmol·L^{-1}作为最佳作用浓度。

4.2 SEM观察 SEM图像直观呈现了不同处理组金黄色葡萄球菌的形态变化特征 (图6)。在control组中, 无论是否施加光照, 细菌均保持完整圆润的形态, 细胞壁表面光滑, 未出现明显损伤, 可见单独光照对细菌结构无显著破坏作用。无光照组实验结果显示, 随着CF浓度由低到高变化, 细菌细胞壁仅呈现轻微皱缩, 整体形态仍保持相对完整, 与control组相比无明显差异; 而光照处理组的细菌形态明显改变, 低浓度CF (0.2 μmol·L^{-1}) 结合光照后, 细菌即出现变形、局部破裂等异常形态; 随着CF剂量的逐步加大 (0.5 μmol·L^{-1}), 细菌结构严重破坏, 表现为细胞壁表面粗糙不平、聚团

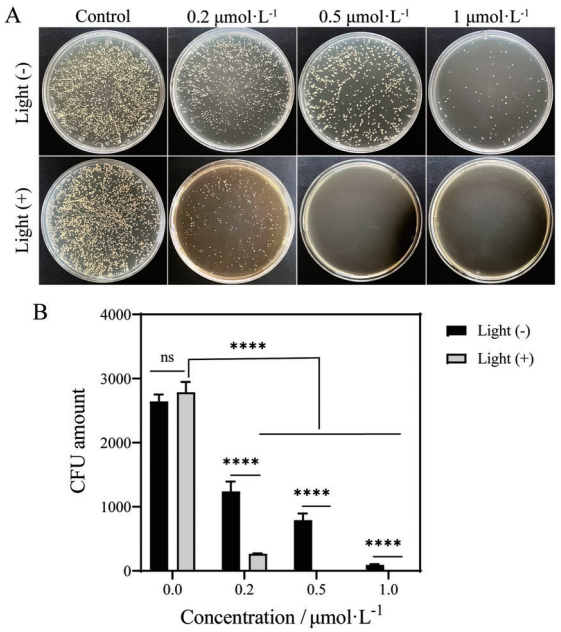


Figure 5 The *in vitro* antibacterial activity of CF at different concentrations (with or without light irradiation). A: Photographs of MRSA bacterial colonies formed on TSB agar plates containing CF at different concentrations (with or without light irradiation); B: The corresponding CFU count of MRSA with various treatments. The power density was 20 mW·cm^{-2} for 5 min. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{****}P < 0.000\ 1$; MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; TSB: Tryptic soy broth; CFU: Colony forming units

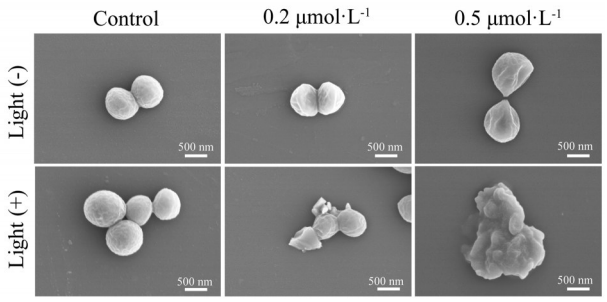


Figure 6 Scanning electron microscopy (SEM) images of bacterial morphology after CF treatment

排列紊乱以及菌体破碎。因此, 化合物CF在光照下产生的ROS破坏了细菌结构, 从而实现有效灭菌。

4.3 LIVE/DEAD^{TM}细菌染色激光共聚焦扫描显微镜观察 细菌生物膜是细菌为适应环境而形成的一种结构化群落, 由众多细菌被自身分泌的胞外基质 (多糖、蛋白质、核酸等) 包裹。它不同于单个游离的浮游细菌, 具有耐药性强、能逃避免疫系统攻击、易引发慢性或反复感染等特点[28]。因其胞外基质形成的物理屏障难以突破、细菌异质性导致清除不彻底和环境适应性强等特点使细菌生物膜的清除难度大大增加[29]。

LIVE/DEAD试剂盒用SYTO-9和PI两种核酸染料, 实现对细菌活性状态的精准检测与区分。其中, SYTO-9能够无障碍穿透所有细菌的完整细胞膜, 在激发后发出绿色荧光; 而PI仅能穿透细胞膜受损的细菌细胞, 与胞内DNA结合并激发出红色荧光。染色后, 细胞膜完整、具有生物活性的活细菌呈现绿色荧光, 而细胞膜受损的死细菌则显现红色荧光, 由此可直观判断细菌状态, 并精确量化活细菌与死细菌在菌群中的比例分布。

在无光照组中 (图7A), 未添加CF的对照组生物膜呈现均匀致密的结构特征, 视野内以绿色荧光为主, 活细菌占比高, 几乎观察不到红色荧光信号, 无CF干预时细菌生物膜完整性良好。在施加低浓度 (0.2 μmol·L^{-1}) 和中浓度 (0.5 μmol·L^{-1}) CF处理后, 虽然绿色荧光强度出现轻微下降, 但生物膜整体仍以绿色荧光占主导地位, 红色荧光信号极其微弱, 在缺乏光照条件下, CF对细菌细胞膜完整性及生物活性的影响极为有限。

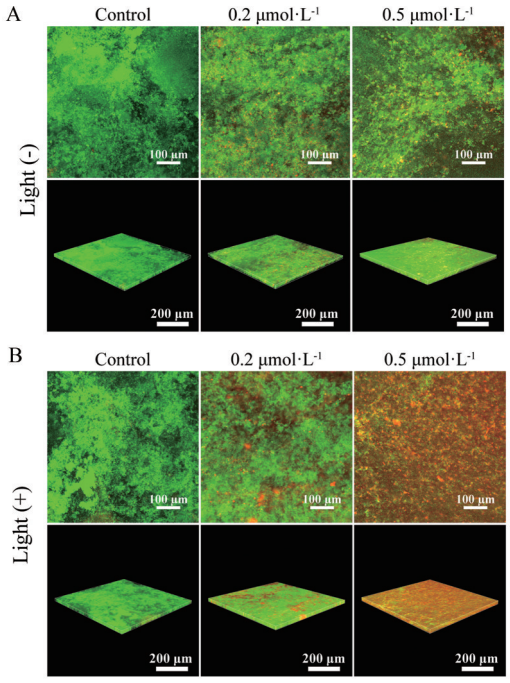


Figure 7　LIVE/DEAD™ images of biofilms after CF treatment; the orthogonal reconstruction images are shown above, and the three-dimensional images of the biofilms are displayed below. A: Without light irradiation; B: With light irradiation

光照组实验中 (图7B), 单独光照处理组的生物膜荧光分布与无光照对照组相似, 说明光照本身对细菌活性无显著影响。当低浓度CF (0.2 μmol·L^{-1}) 与光照协同作用时, 生物膜内绿色荧光明显减少, 红色荧光显著增加, 意味着部分细菌细胞膜完整性遭到破坏; 而略微提高CF浓度至0.5 μmol·L^{-1}并光照5 min后, 视野内生物膜中红色荧光占据主导, 绿色荧光近乎消失, 说明绝大多数细菌死亡。因此, 利用光敏剂CF可以实现高效的生物膜清除。

讨论

感染性疾病至今仍是威胁人类健康的重大难题[30]。光动力抗菌治疗是一种新型无创的治疗方法, 通过使用特定波长的光, 激发聚集于靶组织中的光敏剂, 产生高能活性氧自由基, 选择性破坏细胞和组织, 从而发挥治疗作用[31-33]。本研究围绕化合物CF在光动力抗菌领域的应用展开探究, 通过光学性质表征、活性氧生成验证、抗菌效能评估及生物相容性测试, 揭示了其作为高效光敏剂的潜力。活性氧检测实验证实, CF在光照条件下可快速产生$O_2^{\bullet-}$、·OH及$^1O_2$等多种活性物质。体外抗菌实验结果表明, 在低剂量CF (0.5 μmol·L^{-1}) 下即可实现对MRSA的100%杀伤, SEM分析进一步揭示了光照下CF对细菌结构的毁灭性破坏。进一步地, CF对生物膜也展现出良好的清除能力。

相较于现有光动力抗菌体系, CF的优势体现在“双低高效”特性: 低剂量 (0.5 μmol·L^{-1}) 与低光强 (20 mW·cm^{-2}) 条件下即可实现优异的抗菌效果, 不仅降低了临床治疗对设备参数的严苛要求, 还减少了光敏剂残留引发的不良反应。然而, 本研究仍存在局限性, 如未深入探究CF在复杂生物体内的代谢过程及长期安全性, 且缺乏与临床一线抗生素的抗菌效能对比数据。未来研究将进一步拓展CF在动物感染模型中的抗菌活性验证, 结合药代动力学分析明确其体内作用机制, 并通过优化分子结构提升其靶向性, 为光动力抗菌疗法的临床转化提供更充分的理论与实验依据。

作者贡献: 李那负责实验研究、数据整理、文献整理与撰写等; 吕阳负责化学合成及部分光谱表征; 后际挺和沈建良负责研究方案设计与指导论文修改等工作。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Mohammed EHM, Lohan S, Tiwari RK, et al. Amphiphilic cyclic peptide [W4KR5] -antibiotics combinations as broad-spectrum antimicrobial agents [J]. Eur J Med Chem, 2022, 235: 114278.

[2] Amorim AS, Arnaut ZA, Mata AI, et al. Efficient and selective, *in vitro* and *in vivo*, antimicrobial photodynamic therapy with a dicationic chlorin in combination with KI [J]. ACS Infect Dis, 2024, 10: 3368-3377.

[3] Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes [J]. Curr Opin Microbiol,

2016, 33: 67-73.

[4] Fisher RA, Gollan B, Helaine S. Persistent bacterial infections and persister cells [J]. Nat Rev Microbiol, 2017, 15: 453-464.

[5] Tabrizi L, McGarry R, Turzanska K, et al. Porphyrin-polymer as a photosensitizer prodrug for antimicrobial photodynamic therapy and biomolecule binding ability [J]. Biomacromolecules, 2024, 25: 7736-7749.

[6] Li LF, Yang L, Huang JX, et al. Research progress on structural modification and antibacterialactivity of octapeptin [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 1631-1640.

[7] Naskar A, Kim KS. Friends against the foe: synergistic photothermal and photodynamic therapy against bacterial infections [J]. Pharmaceutics, 2023, 15: 1116.

[8] Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon [J]. Pathog Glob Health, 2015, 109: 309-318.

[9] Jiang JG, Lv XY, Cheng HJ, et al. Type I photodynamic antimicrobial therapy: principles, progress, and future perspectives [J]. Acta Biomater, 2024, 177: 1-19.

[10] Kong L, Zhang RY, Gong JY, et al. Aggregation-induced emission photosensitizer for antibacterial therapy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Chem Commun, 2024, 60: 5960-5963.

[11] Zhou WY, Jiang XQ, Zhen X. Development of organic photosensitizers for antimicrobial photodynamic therapy [J]. Biomater Sci, 2023, 11: 5108-5128.

[12] Inoue T, Ishihara R. Photodynamic therapy for esophageal cancer [J]. Clin Endosc, 2021, 54: 494-498.

[13] Hu X, Zhang H, Wang Y, et al. Synergistic antibacterial strategy based on photodynamic therapy: progress and perspectives [J]. Chem Eng J, 2022, 450: 138129.

[14] Zago LHP, de Annunzio SR, de Oliveira KT, et al. Antimicrobial photodynamic therapy against metronidazole-resistant dental plaque bactéria [J]. J Photochem Photobiol B, 2020, 209: 111903.

[15] Xie JL, Wang YW, Choi W, et al. Overcoming barriers in photodynamic therapy harnessing nano-formulation strategies [J]. Chem Soc Rev, 2021, 50: 9152-9201.

[16] Ren Y, Liu H, Liu X, et al. Photoresponsive materials for antibacterial applications [J]. Cell Rep Phys Sci, 2020, 1: 100245.

[17] Dirak M, Yenici CM, Kolemen S. Recent advances in organelle-targeted organic photosensitizers for efficient photodynamic therapy [J]. Coord Chem Rev, 2024, 506: 215710.

[18] Broekgaarden M, Weijer R, Van Gulik TM, et al. Tumor cell survival pathways activated by photodynamic therapy: a molecular basis for pharmacological inhibition strategies [J]. Cancer Metastasis Rev, 2015, 34: 643-690.

[19] Kim H, Lee YR, Jeong H, et al. Photodynamic and photothermal therapies for bacterial infection treatment [J]. Smart Mol, 2023, 1: e20220010.

[20] Wang XJ, Ma KK, Goh T, et al. Photocatalytic biocidal coatings featuring Zr6Ti4-based metal-organic frameworks [J]. J Am Chem Soc, 2022, 144: 12192-12201.

[21] Cieplik F, Deng DM, Crielaard W, et al. Antimicrobial photodynamic therapy - what we know and what we don't [J]. Crit Rev Microbiol, 2018, 44: 571-589.

[22] Jia QY, Song Q, Li P, et al. Rejuvenated photodynamic therapy for bacterial infections [J]. Adv Healthc Mater, 2019, 8: e1900608.

[23] Correia JH, Rodrigues JA, Pimenta S, et al. Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and Future directions [J]. Pharmaceutics, 2021, 13: 1332.

[24] Yang JH, Zhang YH, Wu XH, et al. Rational design of pyrrole derivatives with aggregation-induced phosphorescence characteristics for time-resolved and two-photon luminescence imaging [J]. Nat Commun, 2021, 12: 4883.

[25] Abubakar U, Al-Anazi M, Alanazi Z, et al. Impact of COVID-19 pandemic on multidrug resistant Gram positive and Gram negative pathogens: a systematic review [J]. J Infect Public Health, 2023, 16: 320-331.

[26] Adedeji-Olulana AF, Wacnik K, Lafage L, et al. Two codependent routes lead to high-level MRSA [J]. Science, 2024, 386: 573-580.

[27] Harrison E. Bacteria divide to conquer antibiotics [J]. Science, 2024, 386: 494-495.

[28] Mendhe S, Badge A, Ugemuge S, et al. Impact of biofilms on chronic infections and medical challenges [J]. Cureus, 2023, 15: e48204.

[29] Donnert M, Elsheikh S, Arce-Rodriguez A, et al. Targeting bioenergetics is key to counteracting the drug-tolerant state of biofilm-grown bacteria [J]. PLoS Pathog, 2020, 16: e1009126.

[30] Naskar A, Kim KS. Nanomaterials as delivery vehicles and components of new strategies to combat bacterial infections: advantages and limitations [J]. Microorganisms, 2019, 7: 356.

[31] Zhao J, Duan L, Wang AH, et al. Insight into the efficiency of oxygen introduced photodynamic therapy (PDT) and deep PDT against cancers with various assembled nanocarriers [J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2020, 12: e1583.

[32] Abrahamse H, Hamblin MR. New photosensitizers for photodynamic therapy [J]. Biochem J, 2016, 473: 347-364.

[33] Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, et al. Photodynamic therapy-mechanisms, photosensitizers and combinations [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 1098-1107.