2023年6月

文章编号:1000-7032(2023)06-1112-09

绿茶衍生碳点用于光动力治疗耐药菌感染

张云秀^{1,2},贾庆岩^{1,3*},葛介超^{1,2*}

(1.中国科学院理化技术研究所光化学转换与功能材料重点实验室,北京 100190;2.中国科学院大学未来技术学院,北京 100049; 3.西北工业大学柔性电子前沿科学中心,陕西西安 710129)

摘要:随着细菌耐药性的不断播散,尤其是"超级细菌"的出现,临床可用抗生素药物越来越少,迫切需要发展新的高效、低毒和无耐药性的抗菌材料和技术。本研究采用生物质绿茶作为碳源,通过溶剂热法,成功制备了 具有光动力治疗(Photodynamic therapy,PDT)性能的绿茶衍生碳点(T-CDs)。在660 nm激光照射下,所制备的 T-CDs能够有效产生活性氧。细胞和活体实验表明,T-CDs具有优异的生物相容性,且产生的活性氧能杀死耐 甲氧西林金黄色葡萄球菌,从而通过降低细菌引起的伤口炎症,加速伤口愈合。本研究所制备的T-CDs能够 通过PDT杀灭致病菌,促进感染伤口愈合,为开发抗生素替代药物提供了新的思路,同时对探索耐药菌感染伤 口临床治疗新方案具有重要参考价值。

关 键 词:碳点;光动力治疗;耐药菌感染;生物质 中图分类号:0819 **文献标识码:**A **DOI**:10.37188/CJL.20230036

Thea Viridis Derived Carbon Dots for Drug-resistant Bacterial Infections by Photodynamic Therapy

ZHANG Yunxiu^{1,2}, JIA Qingyan^{1,3*}, GE Jiechao^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Photochemical Conversion and Optoelectronic Materials, Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China;

2. School of Future Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. Frontier Science Center for Flexible Electronics, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

* Corresponding Authors, E-mail: jchge2010@mail. ipc. ac. cn; iamqyjia@nwpu. edu. cn

Abstract: With the spread of bacterial drug resistance, especially the emergence of "superbugs", it's an urgent need to develop new antibacterial materials and technologies with high efficiency, low toxicity and no drug resistance. In this study, *thea viridis* derived carbon dots (T-CDs) were successfully prepared by solvothermal method. Under 660 nm laser irradiation, the prepared T-CDs could effectively produce reactive oxygen species (ROS). *In vitro* and *in vivo* experiments showed that T-CDs have excellent biocompatibility, and can produce ROS under laser irradiation to kill methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, thereby reducing wound inflammation caused by bacteria and accelerating wound healing. The prepared T-CDs can kill pathogenic bacteria through PDT and promote the healing of infected wounds, provide a new idea for the development of antibiotic replacement drugs, and have important value for exploring new clinical treatment schemes of drug-resistant bacteria infected wounds.

Key words: carbon dots; photodynamic therapy; drug-resistant bacteria; biomass

收稿日期: 2023-02-15;修订日期: 2023-03-06

Supported by National Natural Science Foundation of China (52272052, 51972315, 52273302)

基金项目:国家自然科学基金(52272052,51972315,52273302)

1引言

细菌耐药性(Antimicrobial resistance, AMR) 是指细菌对于抗菌药物作用的耐受性,一旦产生, 药物的治疗作用会明显下降^[1]。AMR的产生是细 菌不断进化和人类过度使用抗生素共同导致的后 果。世界卫生组织发布的报告显示,到2050年, AMR每年会导致1000万人丧生,相当于每3s就 有1人因AMR失去生命,其危害程度将超过癌 症^[2]。近年来,全球药物研发支出不断增加,但抗 生素的研究与开发停滞不前。与其他药物相比, 虽然抗生素市场定价极低,但开发、试验并将药物 推向市场的成本却非常高。候选抗生素从临床前 阶段发展到上市应用大约需10~15年,耗资约10 亿美元,且大多数新药在应用后的2~3年内就会 出现耐药性^[3]。因此,亟需寻求AMR问题的替代 治疗方法^[4]。

光动力治疗(Photodyanmic therapy, PDT)是 一种利用适当波长光源激发光敏剂产生活性氧 (Reactive oxygen species, ROS)杀灭致病微生物的 临床治疗方法,表现出非侵入性和高时空选择性 等优势^[5]。更重要的是,由于 ROS 主要通过氧化 破坏细菌的脂质体、蛋白质和核酸等生物大分子, 无需特定靶点, PDT 不会引发细菌耐药,可用于重 复治疗^[6]。因此, PDT 可作为一种潜在的抗生素替 代方案, 在抗菌治疗领域表现出广阔的应用前景。

碳点(Carbon dots, CDs)作为碳基纳米材料的 成员之一,具有原料来源广、成本低、发光可调、环 境友好和生物安全性高等特性,在肿瘤和细菌感 染PDT应用上受到广泛关注^[7-10]。研究表明, CDs 可依赖于静电作用和 ROS产生等多种复杂的机 制,通过破坏细菌细胞壁诱导细胞质泄漏,扰乱细 菌内 DNA/RNA 的二级结构,抑制基因表达等,从 而实现对细菌的高效灭杀^[11]。此外,已有证据证 明, CDs 的物理化学性质受到碳源的影响^[12]。生 物质碳源具有环保、成本低、来源广泛的优点^[13], 还可以一定程度上替代昂贵的化学试剂。

卟啉类物质(如叶绿素 a、焦脱镁叶绿酸-a、二 氢卟吩 e6、菌绿素等)是目前临床常见的光敏剂, 而叶绿素类化合物是一类富含卟啉类结构的天然 产物。因此,选择合适的富含叶绿素类化合物的 生物质作为碳源,可制备出含卟啉残基的碳点,从 而有望赋予碳点优异的 PDT 性能。绿茶作为一 种生物质,含有多种不同叶绿素化合物,且原产自中国,来源广泛。基于此,本工作选择以绿茶为碳源,通过溶剂热法成功制备了具有 PDT 抗菌功能的 CDs(T-CDs)。在 660 nm 激光照射下,制备的T-CDs 可有效产生 ROS,在细胞和活体水平均能够实现对耐药菌的有效灭杀,为耐药菌感染的PDT 提供了一种新选择。

2 实 验

2.1 实验材料

1,3-二苯基异苯并呋喃、KBr(AR,>99.0%)、 无水乙醇(AR,>99.7%)、二甲基亚砜(AR,> 99.0%)和丙酮(>99.0%)采购自Adamas-beta(中 国)。磷酸缓冲液(PBS)购自广州赛国生物科技 有限公司。Luria-Bertani(LB) ager 购自Sigma-Aldrich(美国)。AlamarBlue 检测试剂盒和活/死染 色试剂盒购自美国赛默飞世尔科技公司。DMEM 培养基、胎牛血清和青霉素-链霉素溶液订购自上 海源培生物科技股份有限公司。耐甲氧西林金黄 色葡萄球菌(MRSA,ATCC BAA-40)和小鼠胚胎 成纤维细胞(NIH3T3,ATCC CRL-1658)源自美国 菌种保藏中心(ATCC,USA)。

2.2 T-CDs的制备

利用破碎机将产自陕西汉中的成品绿茶破碎 为粉末。将2g粉末分散于40mL丙酮中,并转移 至含有聚四氟乙烯内衬的高压反应釜。160℃下 加热12h后,冷却至室温,得到T-CDs溶液。将上 述溶液在10000r/min下离心5min后,取上清液, 进行旋蒸和真空干燥(60℃,12h)处理,得到最终 产物T-CDs粉末。

2.3 T-CDs的形貌表征

使用透射电镜(FEI Talos F200X)对 T-CDs 的 形貌进行表征。将 T-CDs 分散于无水乙醇溶液 中,用1 mL的注射器取少量样品溶液滴在超薄碳 基铜网上,置于烘箱(60 ℃)中干燥 5 min,随后进 行透射电镜测试。

2.4 T-CDs的结构表征

采用傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)(Bruker Tensor II)和 X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)(Kratos, Britain)表征 T-CDs 的化学组成。取 1 mg T-CDs 样品和 150 mg KBr 进行研磨,通过加压机加压制备透明薄片,用于测定 FTIR。直接将 T-CDs 粉末压片用于测定 XPS,结合能根据

284.6 eV的Cls峰校准。运用CasaXPS软件对XPS光谱进行分峰拟合,以对不同元素的化学价态进行解析。

2.5 T-CDs的光吸收特性表征

采用紫外可见光谱(Hitachi, Japan)测试T-CDs的吸收光谱。配置0.1 mg/mLT-CDs的 DMSO溶液,取2mL置入石英比色皿中,以DMSO 为测试背景,测试400~800 nm的吸收光谱。

2.6 T-CDs的ROS产生性能表征

以 1,3-二苯基异苯并呋喃(1,3-Diphenylisobenzofuran, DPBF)作为检测 ROS 捕获剂,用于检 测 T-CDs 光照后产生 ROS 的能力。首先,将 T-CDs 溶液在 660 nm 处的吸光度调到 0.1。以 T-CDs 溶液为测试背景,加入 20 µL DPBF 溶液(1 mg/mL)后,在 660 nm 激光(15 mW/cm²)照射下,收 集 350~500 nm 的 DPBF 的吸收光谱。

2.7 T-CDs的体外抗菌性能表征

抗菌实验:选取耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin resistant Staphylococcus aureus, MRSA) 测试 T-CDs抗菌性能。37 °C下,将MRSA 接种到 LB培养基,培养至对数期(OD₆₀₀ = 1.0)。取1mL MRSA菌液离心,5000 r/min,5 min,随后用PBS 缓冲液重悬。重复清洗三次后,将MRSA菌液进 行稀释,并将其浓度控制在10⁶~10⁷ CFU/mL。然 后,将100 μL MRSA 菌液加入装有不同浓度的 100 μL T-CDs的96孔板中,在37 °C恒湿培养箱中 培养4h后,用100 mW/cm²的660 nm激光照射10 min,继续在培养箱中培养0.5h。取100 μL菌液 于新的96孔板中进行10倍稀释,将稀释好的菌液 取5 μL滴于LB琼脂板进行点板实验,以计算杀 菌率。另外,取100 μL菌液涂布于LB琼脂板上 观察细菌存活数量。

活/死染色:按照上述实验过程,利用100 µg/ mLT-CDs对MRSA进行PDT处理。随后,离心, 获取MRSA,并用50µL含有绿色荧光核酸染色剂 (SYTO[™]9)和碘化丙啶(Propidium iodide,PI)染料 的PBS重悬,进一步孵育10 min。然后,将上述菌 液在5000 r/min下离心5 min,10µLPBS重悬后, 加入到共聚焦培养皿中,利用共聚焦激光扫描显 微镜对细菌进行荧光成像观察。

扫描电子显微镜(Scanning electron microscope, SEM)形貌观察:将经100 µg/mL T-CDs处 理的 MRSA 菌液在5000 r/min下离心5 min,除去 上清液,用4%多聚甲醛重悬,4℃固定过夜。随 后,将固定的细菌离心浓缩后滴至硅片上自然风 干,并使用不同浓度梯度的乙醇(20%、40%、50%、 60%、80%、90%、95%、100%)进行脱水处理。将 脱水完毕的样品自然风干,使用离子溅射仪对样 品硅片进行喷金处理,再用SEM对细菌形貌进行 表征。

2.8 T-CDs的细胞毒性表征

将 NIH3T3 接种于 96 孔板(每孔约1×10⁴个 细胞)中,加入100 µL含10% 胎牛血清和1% 青 霉素-链霉素溶液的 DMEM 培养基。在37 ℃、5% CO₂培养箱中培养24 h后,加入不同浓度 T-CDs并 继续培养24 h。随后,除去含 T-CDs培养液,加入 100 µL溶解有 Alamar Blue 的 DMEM 培养液,继 续孵育6 h。使用多功能微孔板检测仪测定590 nm 处的荧光强度(λ_{ex} =530 nm),并计算 NIH3T3 细胞存活率。

将 NIH3T3 接种于共聚焦皿(每孔约1×10⁶ 个细胞)中,加入1 mL含10% 胎牛血清和1% 青 霉素-链霉素溶液的 DMEM 培养基。在37 ℃、5% CO₂培养箱中培养24 h后,加入不同浓度 T-CDs并 继续培养24 h。随后,除去含 T-CDs培养液,加入 1 mL溶解有钙黄绿素乙酰甲酯(Calcein-AM)/PI 的 DMEM 培养液,继续孵育0.5 h。使用多功能 微孔板检测仪测定 590 nm 处的荧光强度(λ_{ex} = 530 nm),并采用智能全自动活细胞荧光显微成像 系统观察细胞状态。

2.9 T-CDs的活体抗菌性能表征

选用6~8周、体重为(25±5)g的雄性昆明小鼠,异氟醚气体麻醉后,对其背部进行脱毛处理。随后,将直径为8mm的实心铜棒置于90°C水浴中加热10min,取出后迅速放置于小鼠背部并施加一定压力保持10s,以形成皮肤烫伤伤口。在构建小鼠烫伤伤口后,在创面中滴加MRSA溶液(2.5×10°CFU/mL,10 µL)。细菌接种6h后,在创面涂抹上T-CDs溶液,并在4h后利用660nm激光(100mW/cm²)光照20min。以仅T-CDs处理伤口为对照组。每2天称重一次并更换一次敷料,治疗和观察周期共14d。

在创面愈合过程中,观察实验组和对照组的 创面,每隔两天拍照记录,对伤口面积进行量化统 计处理。第5天时,评估MRSA在创面中的生存 情况。收集皮肤伤口组织样本,匀浆后用PBS稀 释至1 mL。然后,利用移液枪以10倍的浓度梯度 进行梯度稀释,并涂板和计数。此外,采集创面组 织,用4%多聚甲醛固定,进行H&E染色和炎症因 子染色(白介素-1β(Interleukin-1β,IL-1β)、肿瘤 坏死因子(Tumor necrosis factor,TNF-α))。在术 后第15天收集器官组织样本进行苏木精/伊红染 色实验(Hematoxylin-eosin staining,H&E)染色。

3 结果与讨论

3.1 T-CDs的结构和性能

首先,通过透射电子显微镜(Transmission electron microscopy, TEM)观察了T-CDs的形貌。 如图1(a)所示, T-CDs为分散良好的类球形纳米 点,平均尺寸约为2.6 nm。高分辨率TEM(High resolution transmission electron microscopy, HRTEM) 显示出T-CDs晶格间距为0.21 nm,证明其石墨化 结构的存在^[15]。此外,利用 FTIR 光谱分析了 T-CDs的化学组成。如图1(c)所示,3000 cm⁻¹附近 存在明显的特征峰,这归因于O-H拉伸振动,表 明 T-CDs 表面含有一OH 官能团; 1 692 cm⁻¹处的 峰值分别对应于共轭碳核中的 C==C 的拉伸振 动;C-N和C-O的拉伸振动分别位于约1455 cm⁻¹和1031 cm⁻¹处^[16]。通过 XPS 进一步分析了 T-CDs的化学组成。如图1(d)所示, XPS全谱在 281.3 eV和529.5 eV处显示两个典型峰,表明T-CDs 主要由 C(78.95%)和 O(21.05%)组成^[17-18]。 如图1(e)和(f)所示,高分辨率C1s光谱显示了三 种不同类型的C:C=C、C=O和C-O。此外, O1s光谱出现了C=O和C-O两个峰。XPS结果 与上述 FTIR 结果相吻合。推测 T-CDs 由 C=C 内 核组成;表面包含羟基、醚键、醛基等官能团,可能 来自生物质中的糖类和木质素。



图 1 (a)T-CDs的TEM图(插图:T-CDs的粒径分布图);(b)T-CDs的HRTEM图;(c)T-CDs的FTIR光谱;(d)T-CDs的XPS 能谱;(e)T-CDs的高分辨率C1s能谱;(f)T-CDs的高分辨率O1s能谱。

Fig.1 (a) TEM image of T-CDs. (b) HRTEM diagram of T-CDs. (c) FTIR spectra of T-CDs. (d) XPS spectrum of T-CDs. (e) High resolution C1s spectra of T-CDs. (f) High resolution O1s spectra of T-CDs.

随后,检测了T-CDs的紫外-可见吸收光谱 (图2(a))。T-CDs在415 nm和667 nm处显示出 两个强的吸收峰,其归属于叶绿素b的特征吸收 峰^[19],表明T-CDs中存在叶绿素芳香残基。研究 表明,叶绿素分子中含有卟吩结构,可用作光敏 剂。因此,我们以 DPBF 作为 ROS 探针,考察了 T-CDs 在 660 nm 激光激发下的 ROS 产生能力。如 图 2(b)所示,随着光照时间延长,DPBF 的吸收显 著降低,证明 DPBF 在 660 nm 激光照射下可以被 T-CDs 产生的 ROS 快速氧化降解^[20-21]。



Fig.2 (a)Ultraviolet-visible absorption spectra of T-CDs and chlorophy. (b)Degradation curve of DPBF.

3.2 T-CDs的体外抗菌性能

我们选择了革兰氏阳性耐药菌 MRSA 作为代 表性耐药菌菌样,通过标准平板计数法评估 T-CDs 在 660 nm 激光光照下灭杀耐药菌的能力,并对处理 后的细菌菌落数进行了统计与分析。如图 3(a)所 示,在无光照的情况下,MRSA 经不同浓度的 T-CDs 处理后,仍均存活良好,表明 T-CDs本身对 MRSA 没 有明显毒性。当用100 mW/cm²的660 nm激光照射 10 min后, MRSA 成活率随着 T-CDs 的浓度逐渐下 降, 且当 T-CDs 的浓度为 100 μg/mL 时, 细菌可被 100% 消除。此外, 通过琼脂板光学图像(图3(b))同 样可以观察到, T-CDs处理的 MRSA 的群落数与对 照组无明显差异; 而经过光照后, MRSA 的群落数明 显减少, 与统计结果一致。



图 3 (a) T-CDs 处理后的 MRSA 成活率(**P<0.01, ***P<0.001);(b) MRSA 在琼脂板上存活菌落的光学图像;(c) MRSA 的活/死染色荧光成像;(d) 经 T-CDs 和 660 nm 激光处理后的 MRSA 细菌的 SEM 图。

Fig.3 (a) Survival rate of MRSA of T-CDs. (b) Optical images of viable colonies of MRSA of T-CDs on AGAR plates. (c) Live/ dead staining fluorescence imaging of MRSA treated by T-CDs. (d) SEM image of MRSA treated by T-CDs.

为了更为直观地证明 T-CDs 的 PDT 抗菌效 果,我们采用活/死染色法和 SEM 观察了 T-CDs 处 理后 MRSA 在有无光照情况下的活力和形态。如 图 3(c)所示,在无光照的情况下,T-CDs 处理后的 细菌主要发射绿色荧光(活菌),表明 T-CDs 本身 对细菌没有影响。而光照10min后,大量的红色 荧光(死菌)信号被观察到。这些结果表明了T-CDs在660nm激光照射下能够有效诱导细菌死 亡。此外,我们还通过SEM证明了T-CDs对细菌 的PDT杀伤机制。如图3(d)所示,未经光照处理

的 MRSA 结构形态保持完整、边界清晰。但660 nm 激光照射后, MRSA 的形态发生明显变化,表现为细菌细胞壁的收缩和融合。该结果与已报道的 PDT 抗菌机制一致^[22-23]。具体机制为:光照后 T-CDs 产生的 ROS 对不饱和脂类、多聚糖等生物 大分子产生毒性, 从而造成对细菌细胞壁的破坏, 导致其形态明显变化。

3.3 T-CDs的细胞生物毒性

我们利用NIH3T3评价了T-CDs的细胞毒性。

如图 4(a)所示,在T-CDs存在的情况下,细胞能够 持续生长,且细胞活力与对照组无显著差异。此 外,活/死染色法结果显示,与T-CDs共培养的 NIH3T3 细胞仍具有正常的梭形形貌,说明细胞状 态良好,并保持正常增殖(图 4(b))。实验结果清 楚地表明,T-CDs对 NIH3T3 细胞没有毒害作用, 不会影响其增殖。因此,制备的T-CDs具有良好 的生物相容性,确保了后续活体抗感染应用的生 物安全性。



图4 (a)经T-CDs处理后的NIH3T3细胞的成活率;(b)经T-CDs处理后的NIH3T3细胞的活/死染色荧光成像。

Fig.4 (a)Survival rate of NIH3T3 cells treated with T-CDs. (b)Live/dead staining fluorescence images of NIH3T3 cells treated with T-CDs.

3.4 T-CDs的活体抗菌性能

为了进一步验证 T-CDs的 PDT 抗菌性能,我 们建立了 MRSA 感染的小鼠皮肤伤口模型。如图 5(a)、(b)所示,仅 T-CDs处理的创面组织中可以 观察到大量的 MRSA 菌落(2.32×10⁷ CFU/g)。当 光照10min后,T-CDs处理伤口组织的活菌数量 明显降低,存活菌落数仅为1.61×10°CFU/g,减 少了93%,表明T-CDs在光照作用下能够有效抑 制伤口感染。

此外,我们还利用H&E染色法观察了第5天



图 5 T-CDs 激光照射处理后, 第 5 天时伤口处 MRSA 菌落涂板(a)、菌落计数(b)、伤口组织 H&E 染色(c)和伤口组织中 IL-1β和 TNF-α 免疫组化(d)(***P<0.001)。

Fig.5 On the 5th day after T-CDs laser irradiation, MRSA colony coating(a), colony count(b), wound tissue H&E staining(c) and immunohistochemistry of IL-1 β and TNF- α (d).

的创面部位的炎症状态。如图 5(c)所示,T-CDs 处理的伤口组织能够观察到明显的紫色中性粒细 胞。与对照组相比,治疗组的中性粒细胞明显减 少。此外,我们还检测了创面的炎症因子 TNF-α 和 IL-1β。结果显示,对照组的 TNF-α和 IL-1β的 表达水平明显高于治疗组,说明细菌的减少能够 缓解伤口的炎症响应(图 5(d))。

我们记录了治疗后感染伤口的愈合过程。 如图 6(a)所示,仅经 T-CDs 处理的伤口在第一 周内可以观察到黄色脓液,表明 MRSA 感染会 引起伤口呈现严重的炎症状态。相比之下, PDT 治疗组的伤口环境较干净,无明显组织渗 出物,伤口愈合速度快。另外,我们统计了治疗 后两周内的伤口愈合率(图6(b))。治疗后的 第3天,治疗组的伤口愈合率为31%,显著高于 对照组的12%。第7天时,治疗组创面愈合率 上升至43%,明显快于对照组的15%。治疗2 周后,光照治疗组伤口几乎完全闭合(98%),而 对照组伤口愈合情况仍表现出一定程度的滞 后。伤口发生细菌感染会带来一系列不良症 状,如过度炎症,大大阻碍了伤口的愈合过程。 我们所制备的T-CDs能在光照作用下有效产生 ROS,用于杀灭细菌,避免了感染引起的过度炎 症,能够促进耐药细菌感染伤口的愈合。



Fig.6 Optical photographs of infected wounds at different time after T-CD treatment(a) and wound closure rate(b)(**P<0.01, ***P<0.001)</p>

在治疗过程中,我们监测了小鼠的体重变化。 如图 7(a)所示,与对照组比较,治疗组小鼠的体 重没有出现明显的变化,表明T-CDs在小鼠体内 展现出良好的生物相容性。此外,我们在对治疗



图7 T-CDs处理后,感染小鼠的体重变化(a)和第15天时主要器官的H&E染色图像(b)。

Fig.7 Body weight changes of infected mice treated by T-CDs(a) and H&E staining images of major organs on the 15th day(b)

后第15天小鼠的主要器官(心、肝、脾、肺、肾)进行了H&E染色组织学分析(图7(b)),均未观察到明显的炎症和损伤,证明了T-CDs较低的生物毒性。因此,我们所制备的T-CDs表现出良好的生物相容性,确保了其抗感染应用的生物安全性。

4 结 论

本研究采用绿茶作为碳源,通过溶剂热法制备了T-CDs。通过对其形貌和结构表征分析可知,T-CDs为类球形,尺寸小于10 nm,表面带有羟基、醚键、醛基等基团。而由于含有叶绿素残基, T-CDs被证明在660 nm激光光照下能够有效产生ROS。体外生物学性能研究表明,T-CDs具有优 异的细胞相容性。同时,在660 nm激光光照下, T-CDs能够通过产生ROS实现对革兰氏阳性耐药 菌的100%高效杀灭。此外,T-CDs同样可以通过 PDT有效灭杀小鼠感染模型伤口部位的耐药菌, 同时降低伤口部位炎症因子TNF-α和IL-1β的水 平,展现出有效的促伤口愈合效果。因此,该T-CDs提供了一种简单、高效、低毒和非耐药的PDT 抗菌策略,对临床耐药菌感染治疗具有潜在的应 用价值。

本文专家审稿意见及作者回复内容的下载地址: http://cjl. lightpublishing. cn/thesisDetails#10.37188/ CJL. 20230036.

参考文献:

- [1] SUGDEN R, KELLY R, DAVIES S. Combatting antimicrobial resistance globally [J]. Nat. Microbiol., 2016, 1(10): 16187-1-2.
- [2] ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis [J]. Lancet, 2022, 399(10325): 629-655.
- [3] OKANO A, ISLEY N A, BOGER D L. Total syntheses of vancomycin-related glycopeptide antibiotics and key analogues
 [J]. Chem. Rev., 2017, 117(18): 11952-11993.
- [4] CROFTS T S, GASPARRINI A J, DANTAS G. Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome [J]. Nat. Rev. Microbiol., 2017, 15(7): 422-434.
- [5] WAINWRIGHT M, MAISCH T, NONELL S, et al. Photoantimicrobials—are we afraid of the light?[J]. Lancet Infect. Dis., 2017, 17(2): E49-E55.
- [6] JIA Q Y, SONG Q, LI P, et al. Rejuvenated photodynamic therapy for bacterial infections [J]. Adv. Healthc. Mater., 2019, 8(14): 1900608-1-19.
- [7] 南福春,薛小矿,葛介超,等. 红光/近红外光响应碳点在肿瘤治疗中的应用进展[J]. 发光学报, 2021, 42(8): 1155-1171.
 NAN F C, XUE X K, GE J C, *et al.* Recent advances of red/near infrared light responsive carbon dots for tumor therapy
 [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2021, 42(8): 1155-1171. (in Chinese)
- [8] LI P F, SUN L, XUE S S, et al. Recent advances of carbon dots as new antimicrobial agents [J]. SmartMat, 2022, 3 (2): 226-248.
- [9] YANG J J, GE G, ZHANG X D, et al. One-step synthesis of carbon dots with bacterial contact-enhanced fluorescence emission: fast Gram-type identification and selective Gram-positive bacterial inactivation [J]. Carbon, 2019, 146: 827-839.
- [10] YANG J J, ZHANG X D, MA Y H, et al. Carbon dot-based platform for simultaneous bacterial distinguishment and antibacterial applications [J]. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2016, 8(47): 32170-32181.
- [11] WANG B Y, SONG H Q, QU X L, et al. Carbon dots as a new class of nanomedicines: opportunities and challenges
 [J]. Coordin. Chem. Rev., 2021, 442: 214010-1-18.
- [12]张震,曲丹,安丽,等. 荧光碳点的制备、发光机理及应用 [J]. 发光学报, 2021, 42(8): 1125-1140.
 ZHANG Z, QU D, AN L, *et al.* Preparation, luminescence mechanism and application of fluorescent carbon dots [J].
 Chin. J. Lumin., 2021, 42(8): 1125-1140. (in Chinese)
- [13] 胡妙言, 刘凯, 高诗雨, 等. 淡竹叶碳量子点的微波法制备及在细胞成像中的应用探究 [J]. 发光学报, 2022, 43 (12): 2001-2013.

HU M Y, LIU K, GAO S Y, *et al.* Microwave preparation of common lophatherum herb carbon quantum dots and application in cell imaging [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2022, 43(12): 2001-2013. (in Chinese)

[14] 吴仕敏, 江用文, 清金杰, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS分析不同足火方式对绿茶中叶绿素降解的影响
 [J]. 食品科学, 2022, 43(8): 44-51.
 WUSM, JIANGYW, HUAJJ, et al. Effects of different full drying methods on the chlorophyll degradation in green tea

as analyzed by UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS [J]. Food Sci., 2022, 43(8): 44-51. (in Chinese)

- [15] ZHANG Y X, JIA Q Y, NAN F C, et al. Carbon dots nanophotosensitizers with tunable reactive oxygen species generation for mitochondrion-targeted type I/II photodynamic therapy [J]. Biomaterials, 2023, 293: 121953-1-13.
- [16] BU W H, XU X W, WANG Z L, et al. Ascorbic acid-PEI carbon dots with osteogenic effects as miR-2861 carriers to effectively enhance bone regeneration [J]. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2020, 12(45): 50287-50302.
- [17] YANG H Y, LIU Y L, GUO Z Y, et al. Hydrophobic carbon dots with blue dispersed emission and red aggregation-induced emission [J]. Nat. Commun., 2019, 10(1): 1789-1-11.
- [18] BAO L, LIU C, ZHANG Z L, et al. Photoluminescence-tunable carbon nanodots: surface-state energy-gap tuning [J]. Adv. Mater., 2015, 27(10): 1663-1667.
- [19] WEN Y M, JIA Q Y, NAN F C, et al. Pheophytin derived near-infrared-light responsive carbon dot assembly as a new phototheranotic agent for bioimaging and photodynamic therapy [J]. Chem. Asian J., 2019, 14(12): 2162-2168.
- [20] SUN J, DU K, DIAO J J, et al. GSH and H₂O₂ co-activatable mitochondria-targeted photodynamic therapy under normoxia and hypoxia [J]. Angew. Chem. Int. Ed., 2020, 59(29): 12122-12128.
- [21] 南福春,杨阳,赵晓智,等.碳点用于荧光成像介导的原位膀胱癌靶向光动力/光热治疗[J].发光学报,2022,43 (4):608-619.

NAN F C, YNAG Y, ZHAO X Z, et al. Orthotopic bladder tumor targeted carbon dots for fluorescence imaging-guided phototherapy [J]. Chin. J. Lumin., 2022, 43(4): 608-619. (in English)

- [22] ZHONG X Y, WANG X W, LI J X, et al. ROS-based dynamic therapy synergy with modulating tumor cell-microenvironment mediated by inorganic nanomedicine [J]. Coordin. Chem. Rev., 2021, 437: 213828-1-35.
- [23] ZHANG J H, JIA Q Y, YUE Z L, et al. An electroluminodynamic flexible device for highly efficient eradication of drugresistant bacteria [J]. Adv. Mater., 2022, 34(17): 2200334-1-11.



张云秀(1990-),女,山东聊城人,博士 研究生,2017年于中国科学院大连化学 物理研究所获得硕士学位,主要从事光 诊疗材料设计及抗肿瘤应用的研究。 E-mail: zhangyunxiu114@mails. ucas. ac. cn



贾庆岩(1990-),男,山东聊城人,博士, 副教授,2018年于中国科学院理化技术 研究所获得博士学位,主要从事光电诊 疗材料与器件在重大疾病中应用的 研究。

E-mail: iamqyjia@nwpu. edu. cn



葛介超(1970-),男,山东临沂人,博士, 研究员,2008年于山东师范大学获得博 士学位,主要从事新型光响应纳米材料 的设计及其在抗肿瘤、病毒、细菌、炎症 或创伤修复等领域应用的研究。 E-mail: jchge2010@mail.ipc.ac.cn