



大环多胺型荧光探针的研究进展

王小波^{1,2} 熊惠娟¹ 吴莎莎¹ 耿志荣^{*2} 王志林^{*2}

(¹ 湖北科技学院药学院, 咸宁 437100)

(² 南京大学化学化工学院, 配位化学国家重点实验室, 南京 210023)

摘要: 大环多胺作为含有多个氮原子和闭合环状结构的一类电子供体, 在构筑荧光探针方面具有独特的优势。代表性的大环多胺如四氮环(cyclen、cyclam 和 pycen)和三氮环(tacn)等, 它们被广泛用于金属离子、阴离子、生物活性小分子和生物大分子探针的识别基团或功能基团。本文依据检测对象的不同, 综述近年来大环多胺在荧光探针的设计、制备及应用方面的优秀成果, 并对未来其在荧光检测分析领域的进一步发展进行了展望。

关键词: 大环多胺; 荧光探针; 1,4,7,10-四氮杂环十二烷; 1,4,8,11-四氮杂环十四烷; 细胞成像

中图分类号: O641.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2020)06-1035-14

DOI: 10.11862/CJIC.2020.143

Progress of Fluorescent Probes Based on Macrocyclic Polyamine

WANG Xiao-Bo^{1,2} XIONG Hui-Juan¹ WU Sha-Sha¹ GENG Zhi-Rong^{*2} WANG Zhi-Lin^{*2}

(¹School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China)

(²School of Chemistry and Chemical Engineering, State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Macrocyclic polyamines are intriguing electron donors for constructing fluorescent probes due to their characteristics of ring configuration and a few nitrogen atoms. For example, typical tetraazamacrocyclic such as cyclen (1,4,7,10-tetraazacyclododecane), cyclam (1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane) and pycen (1,4,7,10-tetraaza-2,6-pyridinophane), and triazamacrocyclic tacn (1,4,7-triazacyclononane) which are widely employed as receptors or functional groups in fluorescent probes for recognition of metal ions, anions, small molecules and biomacromolecules. In this review, we highlight the many different detection targets and summarize the latest prominent research achievements in the design, preparation and application of fluorescent probes based on macrocyclic polyamines. Additionally, the future research interests and perspectives in the field of fluorescence analysis are also addressed.

Keywords: macrocyclic polyamine; fluorescent probes; cyclen; cyclam; cell imaging

0 引言

荧光探针技术是基于荧光信号的产生、转换和识别的分析检测手段, 它相比于高效液相色谱法、

电化学分析法等, 具有选择性高、检测限低、能实现原位检测、实时跟踪监测和无需复杂的前处理工序等优点。荧光探针概念的提出最早可追溯到 1977 年, 密歇根州立大学的 Sousa 首次报道了 2 个基于

收稿日期: 2020-02-17。收修改稿日期: 2020-04-13。

国家自然科学基金(No.21976080, 21775069)和湖北省自然科学基金(No.2018CFB323)资助。

*通信联系人。E-mail: gengzr@nju.edu.cn; wangzl@nju.edu.cn

蔡环-冠醚体系的化合物,当碱金属离子与其相互作用时,荧光发生了显著的淬灭或增强现象^[1]。随后,De Silva 于 1986 年引入了“荧光开关”这一新的表述方式^[2]。直至 1994 年,Czarnik 明确提出了荧光探针的构成三要素,即识别基团(receptor)、荧光信号基团(fluorophore)及连接臂(spacer)^[3](图 1)。在荧光信号基团-连接臂-识别基团这一经典模型的指导下,针对各种目标底物的荧光探针不断涌现,其中不乏一些高选择性、高灵敏性的探针分子,已被广泛应用于生化检测、食品药品监控与分析、临床疾病筛查、环境监测等各项领域^[4-9]。

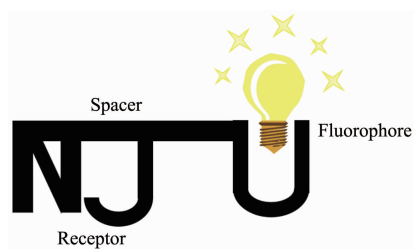


图 1 荧光探针的基本构成示意图

Fig.1 Basic composition of fluorescent probes

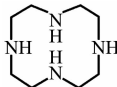
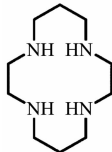
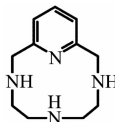
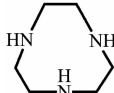
荧光探针的分类方法较多,粗略地按制备方法可分为有机小分子探针、纳米荧光探针和基因荧光探针 3 类。常见的如依据机理的不同可分为:(1) 光诱导电子转移 (PET)^[10];(2) 荧光共振能量转移 (FRET)^[11];(3) 分子内电荷转移 (ICT)^[12];(4) 激基缔合

物的形成或消失(Monomer-Excimer)^[13];(5) 激发态分子内质子转移 (ESIPT)^[14];(6) 聚集诱导发光 (AIE)^[15]等。另外,根据检测的目标底物的不同可细分为 pH 探针、金属离子探针、阴离子探针、活性氧(ROS)探针、生物活性分子探针、细胞器探针、微环境探针等。大环多胺的结构特点为环形空腔和含有较多(通常 3 个以上)拥有孤对电子的 N 原子,因此它能与 H⁺、金属离子等的空轨道作用,从而影响或改变分子中电子的传递、或改变自身的结构,进而通过荧光光谱的改变反映出对底物的识别过程。进一步地,大环多胺与金属离子形成配合物后,可与阴离子、生物分子、DNA、RNA 等相互作用,发生特异性结合。此外,由于较多 N 原子的存在,引入连接臂和各种荧光团或进行其他结构修饰(功能化)则显得尤其方便。由此可知,大环多胺作为直接或间接识别基团,在构筑荧光探针方面具有其独特的“天赋”优势。

随着荧光分析技术的进步与仪器灵敏性的不断升级,相信大环多胺型荧光探针分子库将会进一步发展和丰富,并在化学、生物、医学、环境等诸多领域发挥越来越重要的作用。本文将通过检测底物的不同来进行分类,就近年来基于大环多胺的荧光探针进行综述总结。代表性的大环多胺有四氮环 cyclen、cyclam、pyclen,及三氮环 tacn 等,其结构如表 1。

表 1 常见大环多胺的结构与基本信息

Table 1 Structures and basic information of the common macrocyclic polyamines

Structure				
Abbreviation	cyclen	cyclam	pyclen	tacn
CAS No.	294-90-6	295-37-4	78668-34-5	4730-54-5
Formula	C ₈ H ₂₀ N ₄	C ₁₀ H ₂₄ N ₄	C ₁₁ H ₁₈ N ₄	C ₆ H ₁₅ N ₃
References	[16-18]	[19-21]	[22-26]	[27-29]

1 生命体系富含的金属离子探针

K⁺、Na⁺、Ca²⁺是生命体系中最丰富的金属离子,此外,一些微量的过渡金属离子如 Zn²⁺、Cu²⁺、Fe³⁺、Fe²⁺等也在人体的各项生理活动和新陈代谢中发挥着举足轻重的作用。在所有基于大环多胺荧光探针

的报道中,关于这些离子的文献数量占比也是最大的。Abir 等^[30]在 cyclam 上引入单一的亚甲基苯并咪唑作为荧光团,合成得到了一个“OFF-ON”型 Zn²⁺探针 **1**。该探针对 Zn²⁺有良好的选择性,而 Cu²⁺则淬灭其荧光。当向探针 **1** 的溶液中逐渐加入 Zn²⁺时,荧光强度($\lambda_{em}=304$ nm)随 Zn²⁺浓度的增加而线性升高,最

终可达到起始强度的 12 倍, 荧光量子产率则从 0.02 增加至 0.2。其荧光增强机理为 Zn^{2+} 通过与环上的 N 配位, 阻碍了 PET 过程的发生, 并有效促进了螯合增强荧光效应(CHEF)。与其结构类似, 区别仅在于识别基团为 cyclen 的化合物 **2**, 在 Zn^{2+} 传感上则远不及 **1**, 其原因可能为在构筑探针方面, cyclam 相比于 cyclen 具有更好的 CHEF 效果^[31]。

Shiraishi 等^[32]报道了一个苯基苯并恶唑-酰胺-cyclen 型的比例型 Zn^{2+} 荧光探针 **3**。该探针水溶性良好, 发射峰位于 383 nm 处, 当向其中加入 Zn^{2+} 时, 该发射峰强度逐渐下降, 而在 445 nm 处出现一个新的发射峰, 并随 Zn^{2+} 浓度的增加而增加, 而其他金属离子均无此现象。通过测量该化合物加入 Zn^{2+} 前后的 IR 光谱和电势滴定数据, 发现 Zn^{2+} 除与 cyclen 上 4 个氮原子配位外, 还与酰胺键中的 O 发生了强烈的配位作用, 并导致酰胺键中-NH-的去质子化, 于是产生了新的荧光发射峰(445 nm)。从头计算表明, 去质子化使得苯并恶唑单元在处于激发态时可以自由旋转, 进而稳定了 TICT 激发态。

Comby 等^[33]制备了一个基于 Yb(III)-cyclen-8-羟基喹啉体系的新型 Zn^{2+} 探针 **4**。此化合物通过配位非饱和的 Yb(III)前体配合物 **5** 与磺酸化的 8-羟基喹啉在溶液中自组装而得。在磺酸化 8-羟基喹啉“天线效应”的作用下, 探针 **4** 在近红外区表现出较高的荧光量子产率(甲苯, $Q=(0.23\pm0.03)\%$)。其对 Zn^{2+} 的传感机理为, 加入的 Zn^{2+} 的与磺酸化的 8-羟基喹

啉结合形成了更为稳定的复合物, 产生了该复合物的特征绿色荧光($\lambda_{\text{em}}=529\text{ nm}$), 而由于 **4** 的“天线”被夺走, 起初的近红外荧光发射峰 ($\text{Yb}^{3+}: {}^2F_{5/2} \rightarrow {}^2F_{7/2}$, $\lambda_{\text{em}}=984\text{ nm}$) 则消失。由此可知, 探针 **4** 能同时在近红外区和可见光区实现对 Zn^{2+} 的高效检测, 且 EDTA 滴定实验表明其对 Zn^{2+} 的荧光响应具有可逆性。事实上, Yb(III)前体配合物 **5** 也能通过荧光淬灭实现对 Zn^{2+} 的检测。

化合物 **6** 是赵玉芬等^[34]报道的一个以罗丹明为荧光团, 酰胺键为连接臂, cyclen 为识别基团的 Cu^{2+} 荧光探针。它具有较高的选择性和灵敏性, 可实现对 Cu^{2+} 的裸眼识别, 向 **6** 的溶液中加入 Cu^{2+} , 溶液由无色变为粉色。紫外可见吸收光谱显示, 当体系中 Cu^{2+} 的量为 **6** 的 2 倍时, 557 nm 处的吸光度达到最大值, 增加了 71 倍, 工作曲线也进一步表明 **6** 与 Cu^{2+} 的结合比为 1:2。荧光光谱发现 Cu^{2+} 可使 580 nm 处的发射峰强度提高 53 倍, 是一个并不多见的“OFF-ON”型 Cu^{2+} 探针, 通过计算可得其对 Cu^{2+} 的检测限为 $2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

Watkinson 等^[35]在 1,8-萘二酰亚胺的基础上, 通过双点击反应, 引入 cyclam 作为识别基团和生物素作为癌细胞靶向基团, 成功合成出水溶性良好的化合物 **7**。荧光滴定实验和竞争性实验表明 **7** 是一个优良的 Zn^{2+} 增强型探针, 同时它具有很低的细胞毒性。在激光共聚焦显微镜下, 通过与 DAPI 对比染色发现, 探针 **7** 能透过细胞膜并进入 MCF-7 细胞核

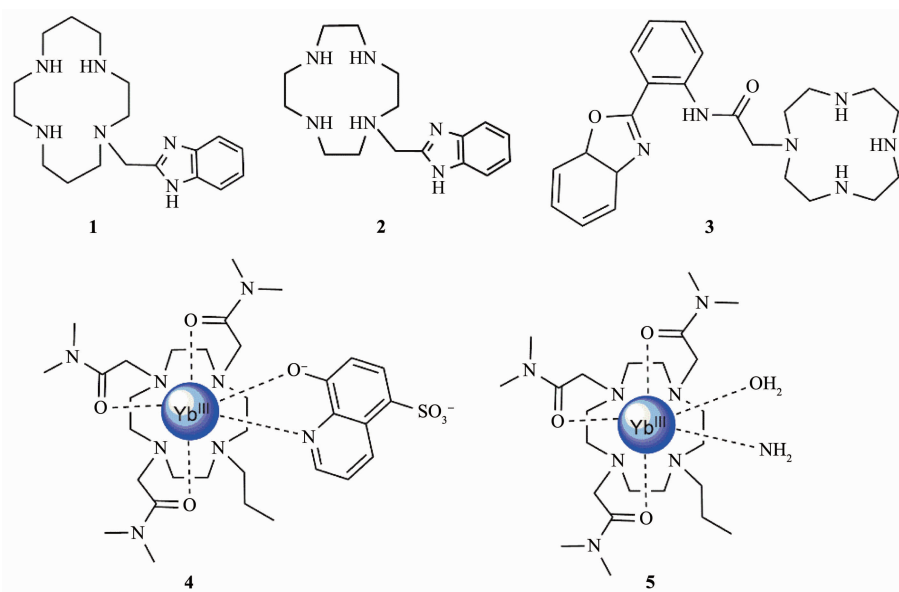


图2 探针 1~5 的结构

Fig.2 Structures of fluorescent probes 1~5

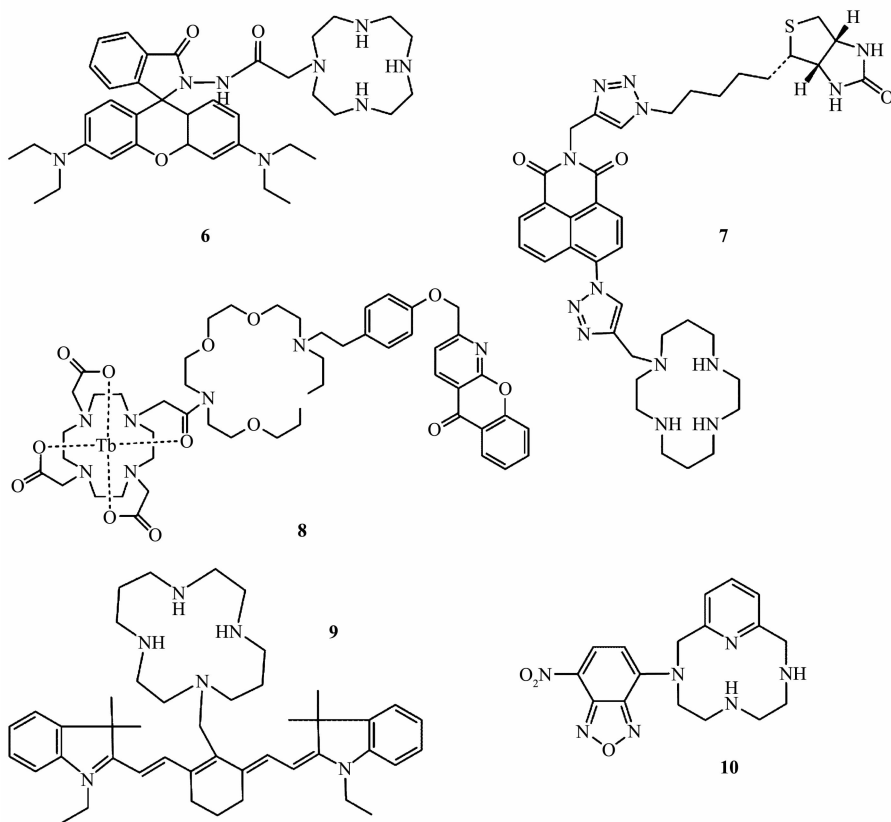


图 3 探针 6~10 的结构

Fig.3 Structures of fluorescent probes 6~10

内,而在核外几乎未见分布。当向培养基中加入外源性锌补充剂吡啶硫酮锌后,细胞核内及核外荧光均显著增强。继续加入锌螯合剂 TPEN 孵育后,整个细胞内的荧光则明显减弱。当以正常 N-TERT 角质细胞来重复上述实验时,发现即使加入足量的吡啶硫酮锌,也无法观察到明显的荧光。由此可知探针 7 具有良好的癌细胞靶向性,可用于癌细胞中 Zn^{2+} 的荧光成像,这为研究 Zn^{2+} 在细胞癌变及癌症演化过程中的作用提供了有力武器。

Pierre 课题组^[36]报道了一个 K^+ 探针 8,它以氮杂冠醚同时作为识别基团和连接基团,连接 5H-色烯并[2,3-b]吡啶-5-酮作为天线。没有 K^+ 加入时,天线处于远端,荧光很弱,当加入 K^+ ,冠醚与 K^+ 配位, $p-\pi$ 共轭拉近了天线和金属中心 Tb^{3+} 的距离,使得能量可以从天线传递到 Tb^{3+} ,实现了对 K^+ 的荧光传感。该分子是一个优良的时间门控型传感器,对 K^+ 的结合常数为 $0.33 \text{ L} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ 。它对 K^+ 的选择性相对于常见竞争性离子如 Na^+ 、 Li^+ 、 Mg^{2+} 与 Ca^{2+} 等,分别达到 93、260、105 和 61 倍。因此探针 8 非常有希望作为临床 K^+ ($0 \sim 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的检测分析工具。

林伟英等^[37]在 cyclam 环上引入三碳花青染料作为长波长荧光团,制备得到了一个比例型的近红外 Cu^{2+} 荧光探针 9,其 2 组发射峰分别位于 637 nm (近红外区)与 778 nm (远红外区),相差达 142 nm。该探针对 Cu^{2+} 的响应快,灵敏度高,检测限低至 $8.9 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,成功应用于 SMMC7721 细胞和昆明小鼠体内对 Cu^{2+} 的荧光成像。

王志林等^[38]在 pycen 环上连接单个 NBD 悬臂合成了一个“ON-OFF”型 Cu^{2+} 荧光探针 10。只有 Cu^{2+} 能有效淬灭 10 的荧光,即使在远远过量的 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 存在下也不影响对 Cu^{2+} 的检测。同时,该探针能选择性定位于细胞的溶酶体,因而可适用于亚细胞层面对溶酶体中 Cu^{2+} 的分析及成像,这将有助于理解溶酶体中 Cu^{2+} 的功能及相关疾病如威尔逊病、门克斯综合征、阿尔兹海默氏症等。

2 重金属离子探针

电子产品的普及和较低的回收利用率使得重金属离子如 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 等的污染广泛存在,它们在人体内富集到一定程度会对各器官造成严重伤

害,制备针对上述重金属离子的高选择性和灵敏性探针具有重要的现实意义。基于大环多胺的重金属离子荧光探针也有较多文献报道。兰静波等^[9]合成了2个基于双cyclen为识别基团和蒽酰亚胺为荧光团的化合物**11**与**12**。 Pb^{2+} 的加入能显著提高它们在548 nm发射峰的荧光强度,在其他金属离子的竞争干扰下,**12**比**11**具有更突出的 Pb^{2+} 选择性与灵敏性。由于**11**中含有一头一尾2个cyclen环,呈对称结构,而**12**中只一端为cyclen,另一端为亲脂性的 $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$,所以探针**11**具有更好的水溶性,其与 Pb^{2+} 的结合比为1:2,**12**与 Pb^{2+} 的结合比则为1:1。鉴于**12**更好的亲脂性,将其成功用于HepG2中对 Pb^{2+} 的荧光成像。

余孝其等^[40]在cyclen的基础上,通过经典的点击化学手段,在对称性的双侧或仅单侧引入蒽环作为荧光团制备得到了相应的化合物**13**与**14**。虽然结构相似,但这2个分子在金属离子识别方面却大相径庭。拥有双蒽环的**13**对 Pb^{2+} 具有优良的选择性, Pb^{2+} 可使其荧光显著增强,其他离子则对荧光无影响(Cu^{2+} 淬灭其荧光)。而对于单侧蒽环的**14**,只有 Hg^{2+} 及 Cu^{2+} 能较大程度地淬灭其荧光,其他金属离子无影响。其中 Cu^{2+} 的“ON-OFF”效应更为显著,荧光几乎完全淬灭。在**13**浓度为 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的HEPES(pH 7.4, $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)中,以 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液进行荧光滴定,荧光强度与 $c_{\text{Pb}^{2+}}$ 在 $0\sim 10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内成良好的线性关系。随后,作者成功将探针**13**用

于对MDA-MB-231细胞中外源性 Pb^{2+} 的荧光成像。为了考察探针**13**是否能在复杂生物样品中也能对 Pb^{2+} 进行检测,选取了胎牛血清作为对象,将 Pb^{2+} 加入血清制备成特定浓度后进行荧光滴定,结果表明其仍然对胎牛血清中的 Pb^{2+} 具有良好的荧光响应与线性关系。由此可知,**13**是一个极具前景的可用于复杂生物样品中 Pb^{2+} 定量检测的荧光探针。

王志林课题组^[41]利用pyclen连接丹磺酰氯为荧光团,合成了一个水溶性良好的高灵敏性 Hg^{2+} 荧光探针**15**,检测限达到 $0.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,低于美国环保局所要求的饮用水中汞的最高含量 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[42]。鉴于**15**与 Hg^{2+} 作用十分迅速且肉眼可见颜色变化,将**15**涂覆于滤纸条上可做成试纸来方便快捷地检测 Hg^{2+} 含量。

Bazzicalupi等^[43]报道了一系列以7-甲氧基-香豆素为荧光团,含S的不同氮杂环为识别基团的化合物**16**,**17**与**18**。在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 混合溶液(4/1, V/V)中,此3个化合物均对 Hg^{2+} 呈现荧光响应,然后它们都可用于对Cos-7细胞中的 Hg^{2+} 荧光成像。当它们以Si@PEG纳米材料包裹或负载于PVC聚合物薄膜上后,即可用于纯水中对 Hg^{2+} 的检测。此外,作者将**18**均匀分散浸入到PVC薄膜中,并利用计算机屏幕照相辅助技术,成功实现了对天然水样品中的 Hg^{2+} 定量分析。除了上述对 Hg^{2+} 的共性响应外,当向化合物**17**的乙腈溶液中加入各种金属离子时,唯有 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 能使荧光急剧增强,表明**17**

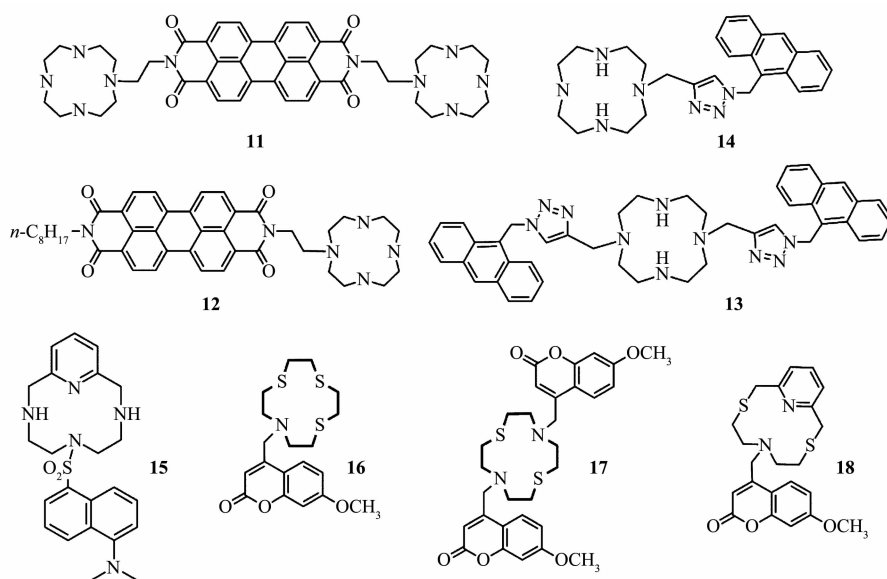


图4 探针**11**~**18**的结构

Fig.4 Structures of fluorescent probes **11**~**18**

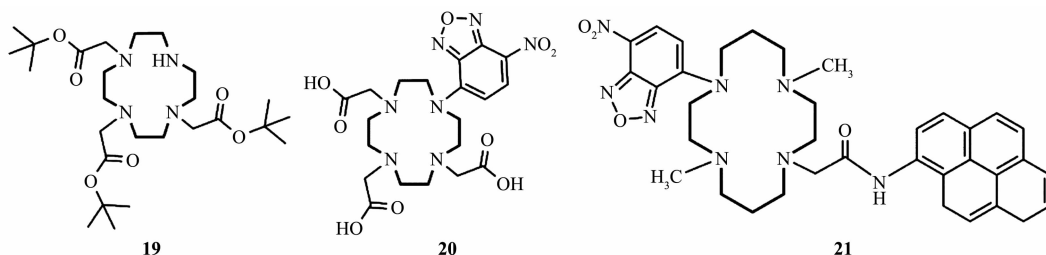


图 5 探针 19~21 的结构

Fig.5 Structures of fluorescent probes 19~21

可用于对 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 的分析检测。

Choi 等^[44]合成了 2 个以 4-硝基-苯并呋喃(NBD)为荧光团, cyclen 为识别基团的化合物 **19** 与 **20**。其中化合物 **20** 对 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及 Pb^{2+} 均有不同程度的响应而选择性较差, 化合物 **19** 则对 Hg^{2+} 有优异的选择性。向乙酸/DMSO 缓冲液(1:9, V/V, pH=4.8)中加入 Hg^{2+} , 溶液颜色由起始的粉色变为黄色, 表明该探针能在酸性条件下实现对 Hg^{2+} 的裸眼识别。当 $c_{\text{Hg}^{2+}}/c_{19}$ 达到 100 时, 530 nm 处荧光强度提高至原来的 24.8 倍。在上述酸性溶液中, 探针 **19** 对 Hg^{2+} 检测限为 $1.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Chang 课题组^[45]在 cyclam 环上同时引入 NBD 和萘环为两组具有不同发射波长的荧光团, 制备得到了化合物 **21**。游离的 **21** 分子在溶液中具有 2 个荧光发射峰, 分别为 385 和 538 nm, 这是萘环和 NBD 的特征峰。对于 Cu^{2+} 的荧光滴定, 538 nm 处发射峰强度明显降低, 而 385 nm 处基本没有变化。当向含有 **21** 的溶液中逐渐加入 Hg^{2+} 时, 538 nm 处的荧光强度逐渐增加, 最终可达起始值的 10 倍(此时 $c_{\text{Hg}^{2+}}/c_{21}=100$), 而 385 nm 处的发射峰基本维持不变。这充分说明化合物 **21** 对于 Hg^{2+} 和 Cu^{2+} 而言, 分别为“OFF-ON”型和“ON-OFF”型荧光探针, 兼具检测 Hg^{2+} 和 Cu^{2+} 的功能。

3 卤素阴离子与磷系物种探针

卤素阴离子 X^- (如 F^- 、 Cl^- 、 I^-) 与一些磷系物种如 PPi 、 ATP 、 ADP 、 AMP 等在生命体系中扮演者不可替代的角色。大环多胺与金属离子形成配合物后, 可广泛用于对 X^- 及磷系物种的荧光传感。Liu 等^[46]以 C_2 对称性的 cyclen 骨架为基础, 制备得到了一系列镧系配合物 **22**~**24** ($\text{Ln}=\text{Eu}$, Tb , Yb)。当向它们的溶液加入 F^- 后, F^- 会与两分子中的 Ln^{3+} 成键, 并将 2 个配合物分子彼此拉近, 形成一个近乎封闭的“笼子”, F^- 自身则被包裹于“笼”中并占据中心位置。此

超分子自组装过程可由紫外可见吸收光谱、稳态发射光谱、NMR 与高分辨质谱实施监控。X-ray 单晶衍射则进一步揭示了“Eu-F-Eu”桥及 Eu 配合物二聚体的存在。Eu 配合物对 F^- 表现出优良的选择性, Eu^{3+} 特征荧光发射峰强度可提高 22 倍, 而 Cl^- 、 Br^- 、 AcO^- 与 HCO_3^- 均无响应。表明 Eu 配合物 **22** 是一个优异的 F^- 探针, 其对 F^- 的检测限可达 $0.46 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($24 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

卢忠林课题组^[47]以三氮环[12]aneN₃ 为 Cu^{2+} 识别基团, BODIPY 为荧光团设计合成了一个含双三氮环的“ON-OFF-ON”型 Cu^{2+} 及 ADP 荧光探针 **25**。 Cu^{2+} 与 **25** 以 2:1 的方式结合, 且几乎可完全淬灭 **25** 的荧光。当继续加入 ATP、ADP、AMP、 PPi 等各种磷系物种时, 唯有 ADP 能使荧光完全恢复, 它也被用于 HepG2 中外源性 Cu^{2+} 及 ADP 的检测。2018 年, 该团队^[48]仍在 [12]aneN₃ 为 Cu^{2+} 配位识别基团的基础上, 以具有 AIE 活性的四苯基乙烯为核, 制备了一个新的“ON-OFF-ON”型荧光探针 **26**, 可在水溶液中自组装成 AIE 胶束, 用于对 Cu^{2+} 和 ATP 的荧光传感。 Cu^{2+} 能有效淬灭 **26** 的荧光, 随后加入 ATP、ADP、AMP、GSH、Cys、Hcy 及其它阴离子, 只有 ATP 能让荧光恢复 (ADP 不明显)。该探针对于 Cu^{2+} 及 ATP 的检测限分别为 0.1 和 $1.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。MTT 实验表明 **26** 及 **26**- Cu^{2+} 对细胞具有很低的细胞毒性和良好的细胞膜透过性, 它们可成功用于 HepG2 细胞中对 Cu^{2+} 与 ATP 的荧光成像。这也是第一例将 AIE 胶束用作界面荧光探针的报道。

王志林团队^[49-50]以 pycen 分别连接萘环和蒽环作为荧光团合成得到了 2 个化合物 **27** 和 **28**, 当加入 Zn^{2+} 时, 它们的荧光均显著提高, 是典型的“OFF-ON”型 Zn^{2+} 荧光探针。与 Zn^{2+} 结合形成相应的复合物 **27**- Zn(II) 和 **28**- Zn(II) 后, 都能对焦磷酸根 (PPi) 产生特异性的响应, 同时又有所不同。对于 **27**- Zn(II) , 加入 PPi 后在 415 nm 处产生了新的荧光峰, 内在原

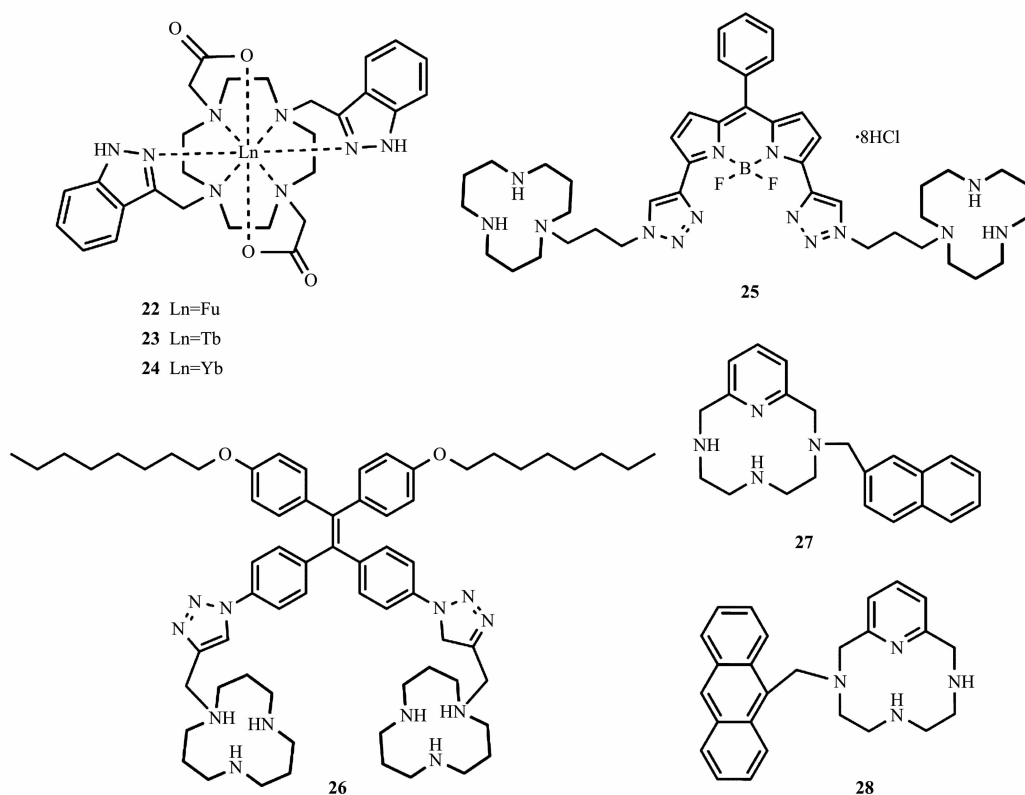


图6 探针 22~28 的结构

Fig.6 Structures of fluorescent probes 22~28

因是1个PPi与两分子的**27**-Zn(II)发生静电相互作用,在PPi的牵引下形成了激基缔合物。对于**28**-Zn(II),PPi只是淬灭原体系的荧光。因此,**27**-Zn(II)与**28**-Zn(II)分别为比率型和“ON-OFF”型PPi荧光探针。**27**-Zn(II)成功用于检测无机焦磷酸酶的活性,**28**-Zn(II)则用于检测碱性磷酸酶及ATP硫酸化酶的活性。

4 重要功能性生物小分子探针

为了抵御外来应激压力与损伤,细胞内的一些生物活性小分子如GSH、Cys、Hcy扮演着“清道夫”的重要角色。此外,越来越多的研究表明, H_2S 、NO等作为内源性气体信号分子在调节血管舒张、神经传导、心肌收缩、细胞凋亡、炎症等生理过程中具有十分重要的意义。因而设计研发针对上述重要生物功能小分子的大环多胺型荧光探针也是化学家的重要研究兴趣之一。Gunnlaugsson等^[51]制备了1个含有4个酰胺悬臂的单核铽配合物**29**,其中1个悬臂(天线)含有马来酰亚胺官能团,可以与-SH发生1,4-Michael加成反应。在无GSH时,天线上的能量无法向 Tb^{3+} 转移,当Michael加成反应发生即GSH

连接上之后,实现了能量向 Tb^{3+} 的转移,荧光大大增强,故此探针可用于对GSH的灵敏检测。在生命体系中,氧化型谷胱甘肽(GSSG)转化成GSH是一个广泛存在的还原反应,此反应需在谷胱甘肽还原酶催化和还原氢(NADPH)做电子给体的条件下发生。因此,利用**29**监控GSH的产生来间接实现对谷胱甘肽还原酶的活性监测成为可能。通过荧光光谱动力学实验,测定了4.93、9.86、19.72 nmol·L⁻¹三个谷胱甘肽还原酶浓度下,GSSG平衡转化为GSH的时间差异,分别为36、18和10 min。表明在不同谷胱甘肽还原酶浓度下,体系中GSSG转化为GSH的时间不同,浓度越高,所需时间越短。这样,可以建立起以**29**作为GSH探针来测定谷胱甘肽还原酶活性的分析法。

王志林课题组^[52]以桥联双三氮环tacn为金属离子螯合位点,NBD为荧光团制备得到了对 Hg^{2+} 有响应的荧光探针**30**。进而利用Hg与S的强亲和力,可实现对生命体系中常见的含硫物种如GSH与Cys的检测,成功用于人体血清和胎牛血清中GSH的检测,测得含量分别为810与617 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另外,该探针还具有一定的高尔基体选择定位能

力。该团队^[53]还用 BODIPY 为荧光团合成了 BODIPY-tacn-Cu(II)配合物 **31**, 它对同型半胱氨酸(Hcy)表现出优异的选择性, 而 GSH、Cys 则影响甚微, 因而是一个高选择性的 Hcy 荧光探针。以内标法精确测定了健康人体血清中 Hcy 含量为 $(36.02 \pm 3.02) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 与 ELISA 试剂盒检测的结果基本一致 $((34.00 \pm 0.77) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ 。胱硫醚 β -合成酶(CBS)是生命体系中一种重要的调节 Hcy 代谢的酶, 其活性与一系列和 Hcy 有关的疾病关系密切。在 5-磷酸吡哆醛存在下, CBS 可催化 L-Hcy 与等量的 L-丝氨酸反应生成 Cys。因此通过监控 Hcy 的消耗量(或消耗速率)即可实现 CBS 活性的检测。

王明慧等^[54]合成了 1 个基于荧光素-cyclam-Cu(II)的“OFF-ON”型 NO 探针 **32**。配合物 **32** 本身无荧光, 当与 NO 反应后, 在 $\lambda_{\text{ex}}=465 \text{ nm}$ 激发下产生荧光, 最大发射波长 $\lambda_{\text{em}}=524 \text{ nm}$ 。在 H_2O_2 、ONOO⁻存在下, **32** 对 NO 表现出良好的选择性。随后作者以 NOC-18 为 NO 释放剂, 在 $4 \times 10^{-5} \sim 14 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内, 建立了 NOC-18 浓度与荧光强度之间的关系曲线, 由此即可实现对 NO 的直接检测。

Nagano 小组^[55]选取荧光素为荧光团, 以酰胺键分别连接 tacn、cyclen 及 cyclam 并利用 Cu^{2+} 为配位金属离子制备得到了一系列荧光素-大环多胺-Cu(II)配合物 **33~36**。其中 **34** 对 H_2S 表现出高选择性和

高灵敏性, ROS 与活性氮(RNS)无响应, 且由于其高稳定性, 高浓度 GSH 下也不影响对 H_2S 的检测。由于激发波长在可见光区, 可用于细胞成像, 通过以不同浓度的 H_2S 孵育 HeLa 细胞, 并对照 20 min 后的细胞内平均荧光强度, 发现 $I_{20 \text{ min}}/I_{0 \text{ min}}$ 随 Na_2S 孵育浓度增加而逐渐增大。除此之外, 研究证实 **34** 还可广泛用于检测各种酶反应中产生的 H_2S , 如 3-巯基丙酮酸转硫酶(3MST), 或来自 3MST 表达细胞的溶菌液及 3-巯基丙酮酸等。该探针在胱硫醚 β -合成酶(CBS)、胱硫醚 γ -裂解酶(CSE)与 3MST 等的激动剂与拮抗剂的高通量筛选领域颇具潜力, 并有望在深入探索 H_2S 的生理功能方面发挥重要价值。

杨国强等^[56]通过三芳硼烷功能化, 连接二苯胺与 cyclen, 成功制备了 3 个对 Cu^{2+} 有响应并随后可用于 H_2S 检测的荧光探针 **37~39**。**37** 与 **38** 分别含有 3 个及 2 个 cyclen 单元而具有良好的水溶性, **39** 只有 1 个 cyclen 而亲水性较差。它们与 Cu^{2+} 形成配合物后, 在 H_2S 诱导的有限聚集作用下, 其光稳定性均有所提高, 荧光寿命也发生了改变。以 **38** 孵育 NIH/3T3 细胞仅仅 5 min 后, 即可观测到细胞内强烈的荧光, 而以 **37** 和 **39** 孵育长达 1 h 后, 仍然只看到十分微弱的荧光, 这表明 3 个分子中, 只有 **38** 具有良好的细胞膜透过性。细胞共定位实验表明 **38** 能选择性定位于细胞的线粒体。因此, 在双光子荧

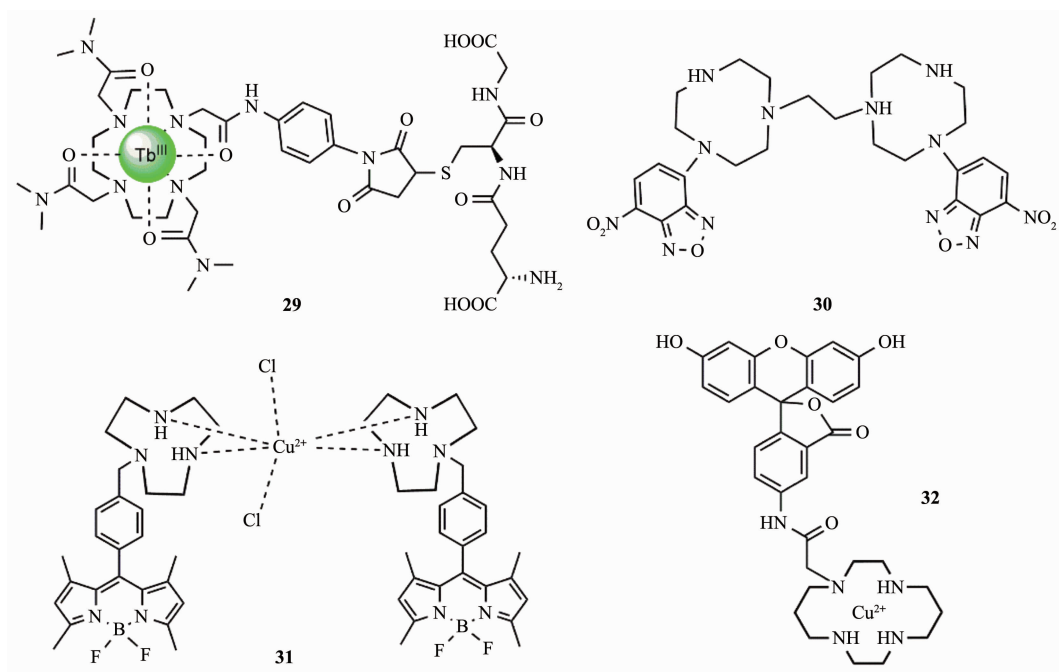


图 7 探针 **29~32** 的结构

Fig.7 Structures of fluorescent probes **29~32**

光显微镜及荧光寿命显微镜辅助下,**38**-Cu(II)被成功用于 NIH/3T3 成纤维细胞中对 H_2S 的荧光成像。

同样是基于 Cu(II)-cyclen 配合物,黄德建小组^[57]以 BODIPY 为荧光团,设计合成了 2 个高选择性和灵敏性的“OFF-ON”型 H_2S 荧光探针 **40** 与 **41**。它们的发射波长分别为 765 与 680 nm,对 H_2S 的检测限均为 $80 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。**40** 由于具有相对更长的发射波长

(位于近红外区),它成功用于对 HEK293 细胞中内源性 H_2S 的荧光成像。并且通过皮下注射 **40** 与 Na_2S ,还实现了小鼠体内 H_2S 的监测。**41** 波长较短,则是用于检测食物中 H_2S 释放或含量的理想武器。以 Na_2S 或大蒜素(有机多硫化物, H_2S 供体)孵育 MCF-7 细胞后,**41** 也成功用于对 H_2S 的荧光成像,且荧光强度与孵育浓度有良好的线性关系。

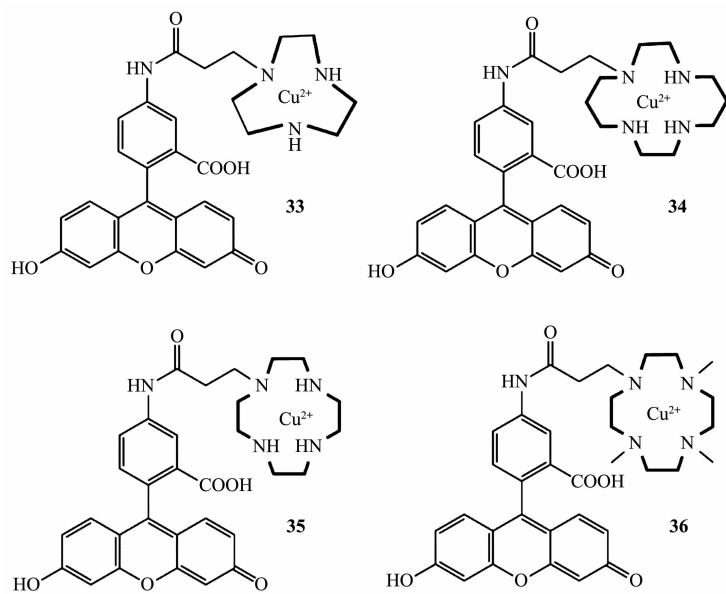


图8 探针 **33**~**36** 的结构

Fig.8 Structures of fluorescent probes **33**~**36**

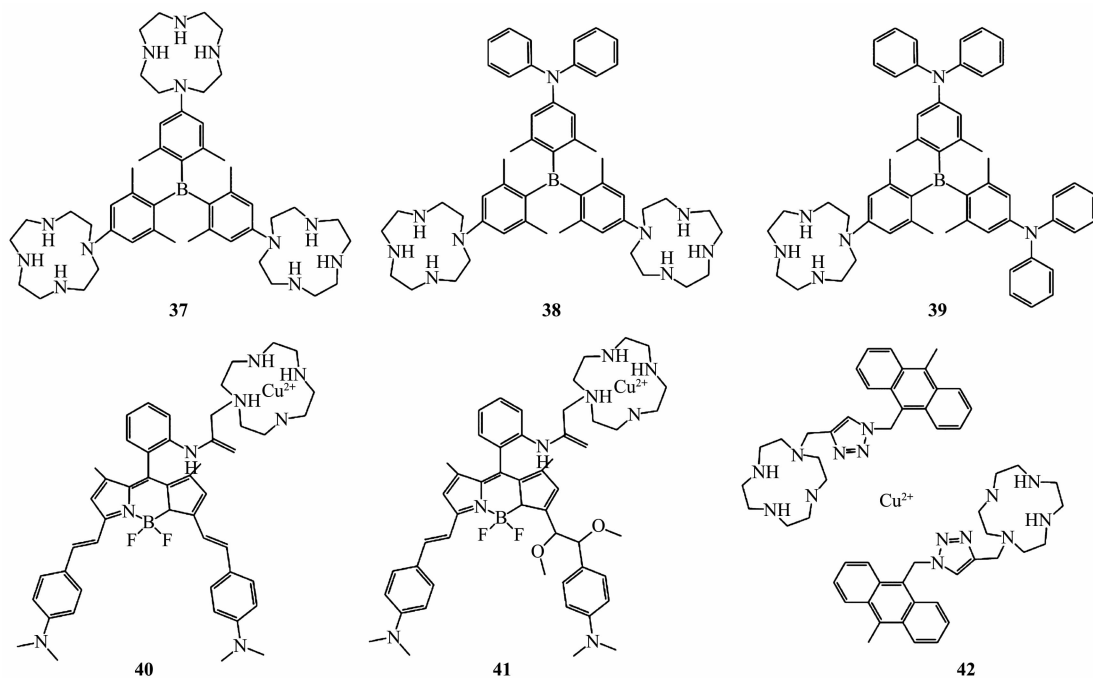


图9 探针 **37**~**42** 的结构

Fig.9 Structures of fluorescent probes **37**~**42**

Wang 等^[58]以 cyclen 为铜离子整合基团, 蒽环为荧光团, 制备了 1 个 H_2S 荧光探针 **42**。当向该探针溶液中加入 NaHS 后, CuS 的生成使得荧光得以恢复。**42** 对 H_2S 除了优良的选择性, 还表现出其它优点, 如较快的响应速度(小于 1 min), 良好的可逆性, 低的检测限($205 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)等, 最终该探针成功用于 HeLa 细胞及斑马鱼中 H_2S 的荧光成像。

Mirra 等^[59]合成了 1 个 茈 环-cyclam- Cu(II) 的“笼”形配合物 **43-Cu(II)**, 该配合物也是 1 个具有较好选择性的 H_2S 探针, 不足是其水溶性较差。

5 生物大分子探针

基于对大环多胺及其配合物的构建, 利用金属中心离子的正电荷与配位作用, 制备能特异性识别生物大分子如 DNA、RNA、蛋白质或酶等的小分子荧光探针也是分析化学家与生物学家的共同追求。Albelda 等^[60]以 pycen 连接蒽环制备了化合物 **44**, 当向其溶液中分别加入单链多聚核苷酸如 polyA、polyG、polyU 和 polyC, 及双链多聚核苷酸如 polyA-polyU、poly(dAT)₂ 和 poly(dGC)₂ 时, 紫外可见吸收光谱与荧光光谱均发生了变化且呈现有规律的差异。以荧光滴定为例, 逐渐加入单链嘌呤型的 polyA 或 polyG 时, 荧光先发生淬灭, 并经历 1 个最低点后又逐渐恢复, 最终稳定在较高的荧光强度(远高于未滴定前的自由分子 **44** 的荧光强度), 同时最大发射峰

的位置也红移了 8 nm。而富含嘧啶的 polyU 或 polyC 则对体系的荧光几乎没有影响。上述现象产生的可能原因是 **44** 仅能与富含嘌呤的 polyA 和 polyG 发生嵌插结合。对于双链多聚核苷酸, 加入约 20 倍的 polyA-polyU 时, 荧光强度增加为原来的 2 倍, 且最大发射波长红移 15 nm。同样, 加入 poly(dAT)₂ 后, 荧光强度也逐渐增加并红移, 但达到平衡时 poly(dAT)₂ 的量仅为 **44** 的 3 倍。而当加入 poly(dGC)₂ 时, 荧光则逐渐淬灭且无红移现象发生。综上所述, **44** 是一个可用于识别不同单、双链多聚核苷酸的荧光探针。

杨楚罗小组^[61]以四苯乙烯-cyclen- Zn(II) 为载体制备了一个可识别特定 DNA 的荧光探针 **45**。向该配合物的 HEPES 缓冲液中加入富含胸腺嘧啶的 DNA 时, 其荧光显著增强, 而富含腺嘌呤、鸟嘌呤或胞嘧啶的 DNA 对荧光几乎没有影响。但由于随机 DNA 的存在, 使得其对富含胸腺嘧啶 DNA 的选择性不甚理想。为了消除这一弊端, 作者创造性地引入苯酚红与配合物 **45** 组装形成 **45-苯酚红** 而将 **45** 的能量转移至苯酚红, 消除了 **45** 本身所具有的背景荧光, 如愿提高了其对富含胸腺嘧啶 DNA 的选择性。**45-苯酚红** 也成功用于对多聚脱氧胸苷酸序列的检测, 检测长度可短至 2 nt。

Viehweger 等^[62]设计合成了一个基于 tacn 的双模态表皮生长因子(EGF)探针 **46**。**46** 的结构主要包

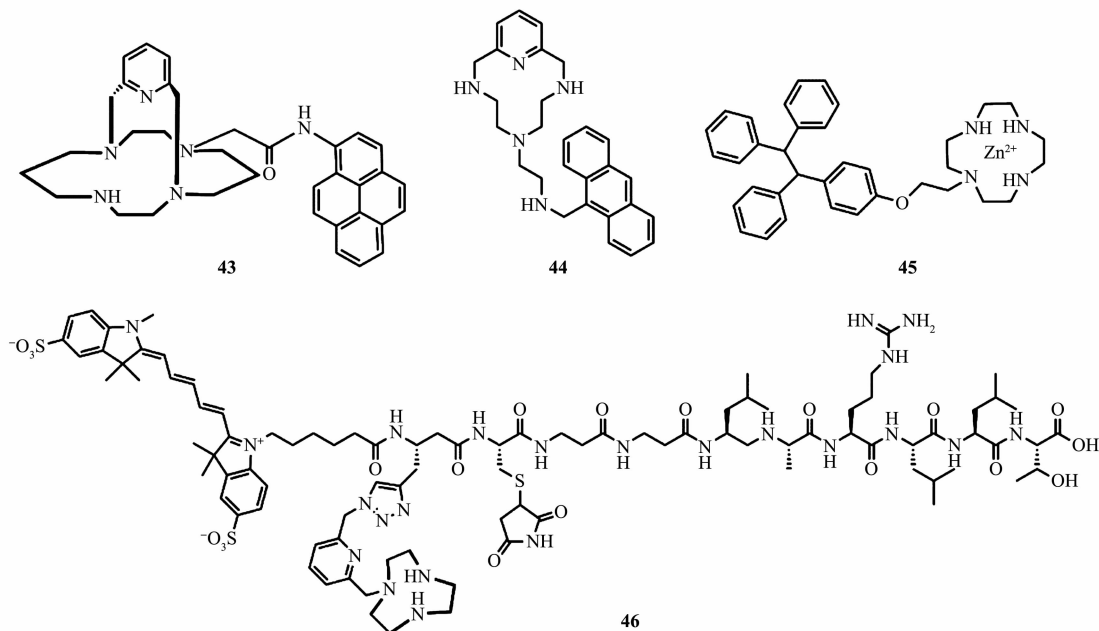


图 10 探针 **43~46** 的结构

Fig.10 Structures of fluorescent probes **43~46**

含4部分:(1)用于螯合 $^{64}\text{Cu}(\text{II})$ 的 tacn 及其支链部分;(2) EGF 受体识别基团 D4 多肽^[63];(3) 荧光团近红外花青染料 sulfo-Cy5;(4) 连接基团 Cys- β -Ala- β -Ala。Tacn 及其支链表现出对 $^{64}\text{Cu}^{2+}$ 的快速动力学结合,在5 min内其放射化学产率超过95%,同时表现出高度的去金属化惰性,这无疑表明其可以作为基于 $^{64}\text{Cu}(\text{II})$ 的体内正电子发射计算机断层扫描(PET)造影剂。通过激光-荧光光谱法及免疫共沉淀法,研究了D4肽链与EGF受体的相互作用。进一步地,选取代表性的EGF受体表达细胞FaDu与A431,以放射性测量法确定了46与EGF受体的表观解离常数 K_d 约为 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,充分说明46与EGF受体形成了十分稳定的复合物。因此,对于涉及EGF受体介导的一系列信号转导过程,46能显著抑制其中一些关键酪氨酸残基的关于EGF诱导的自发磷酸化活性。综上所述,双模态探针46将有极大潜力成为构建EGF受体靶向的纳米药物平台。

Nagano 课题组^[64]报道了1个可以用于比例型测量激酶A(PKA)活性的多肽荧光探针47-Cd(II)。该探针由多肽底物通过香豆素生色团连接Cd(II)-四氮环而组成,其中Cd(II)-四氮环是磷酸基团识别位点。当多肽底物上的羟基磷酸化之后,Cd(II)-四氮环即与带负电的磷酸基团相互作用,导致激发波长发生红移,由此前的360变为410 nm。因此,利用这2个波长下的荧光强度比即可实现对PKA活性的测定。

Komiyama 小组^[65]报道了2个可用来测试酪氨酸激酶活性的荧光探针48和49。它们是2个双核 Tb^{3+} 配合物,可以选择性地与磷酸化的酪氨酸结合而发出强烈的荧光(增强10倍)。这是苯环上的酚羟基磷酸化后,与双核 Tb^{3+} 中心发生结合,苯环吸收的能量可有效传递给金属 Tb^{3+} 中心所致。遗憾的是激发波长太短($\lambda_{\text{ex}}=262\text{ nm}$),因而限制了其应用于生物体内。

另外,前文提及的杨国强等^[66]制备的化合物38,除可用于 Cu^{2+} 和 H_2S 识别外,它还是一个优异的比例型RNA荧光探针。当向38的水溶液中逐渐加入RNA(来源于圆酵母)时,荧光峰的位置逐渐蓝移,由560 nm蓝移至490 nm,紫外灯下可见其颜色逐渐由黄色变为蓝绿色。同样条件下,加入DNA则蓝移非常微弱。造成明显差异的原因可能是双螺旋结构的DNA各碱基对间已经形成了各种氢键,导致38与DNA间的氢键非常微弱。进一步的单链DNA

荧光滴定实验也证实了上述假设。在38良好的细胞膜透过性的前提下,用其孵育NIH/3T3细胞后,通过激光共聚焦荧光成像和双通道信号输出,证实了细胞核相比于细胞质具有更低的粘度。

6 其他分子离子探针

除了上述作用对象,大环多胺型荧光探针还在其它领域显示出顽强的生命力,如纳米荧光材料、细胞微环境检测等。刘变化等^[67]利用cycle与柠檬酸在微波辐射下制备得到了一种具有明亮蓝光发射($\lambda_{\text{em}}=442\text{ nm}$)的碳量子点荧光材料。在750 W的微波辐射条件下,整个过程包括缩合、交联、碳化只需要5 min,同时其量子产率可达27.6%。在该碳量子点的表面聚集了密集的cyclen环,从而能与 Eu^{3+} 结合而构建得到1个可用于四环素识别的比例型荧光探针50。在没有四环素时,虽然结合了 Eu^{3+} ,但此时50只有442 nm荧光发射峰。当加入四环素后,产生了新的 Eu^{3+} 特征荧光发射峰,最强峰位于616 nm处,归属于 $^5D_0\rightarrow^7F_2$ 。随着四环素浓度的增加,616 nm处峰强度增加明显,而442 nm处的峰强度则略微下降。因此,以 $I_{616\text{ nm}}/I_{442\text{ nm}}$ 对四环素的浓度作图,即可实现对四环素的检测。在 $0\sim3.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度区间内,线性关系良好($R^2=0.998$),计算可得对四环素的检测限为 $5.2\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($11.7\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。选择性实验表明,探针50只对四环素和土霉素有响应,而对其它抗生素如庆大霉素、羧苄青霉素、氯霉素、阿莫西林、司氟沙星等无响应,原因可能是只有四环素与土霉素具有相似的 β 二酮结构。此外,四环素的加入引起了颜色的逐渐变化,由蓝到红,作者成功利用手机及颜色识别app(ColorMeter RGB picker, White Marten)实现了对四环素的智能检测,且线性关系良好($R^2=0.98$)。

Kimura 等^[68]对cyclen双功能化,引入1个丹磺酰基做荧光团,和3个甲胺酰甲基为金属离子提供配位点,合成得到了对 Y^{3+} 和 La^{3+} 具有选择性的荧光探针51。3个甲胺酰甲基与来源于丹磺酰基悬臂上NH去质子化的H形成了氢键,而导致51在激发态下具有强的荧光。加入 Y^{3+} 或 La^{3+} 后,甲胺酰甲基侧链的配位使得相应的配合物十分稳定,并允许来自丹磺酰基悬臂去质子化的信号传递,因而表现出明显的荧光增强。在 $\text{pH}=7.4$ 的HEPES缓冲溶液中,其它金属离子如 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Au^{3+} 、 Sc^{3+} 、 Eu^{3+} 、 Gd^{3+} 、 Tb^{3+} 与 Yb^{3+} 等均对51的荧光无影响。由上

可知, **51** 将在 Y^{3+} 和 La^{3+} 的定性和定量测定方面具有重要价值, 特别是对于 ^{90}Y , 作为临床上放疗的重要金属元素之一, 对 Y^{3+} 的传感必将有用武之地。

李赞等^[69]以生物素-组氨酸与 BODIPY-cyclen-Cu(II) 反应构建了 1 个可用于监测细胞内乏氧情况的荧光探针 **52**。其作用机理为: 该探针本身由于 Cu^{2+} 的顺磁性淬灭作用而具有很弱的荧光(OFF 态), 由于结构中生物素的存在, 它能富集于生物素受体过表达的癌细胞中, 而乏氧癌细胞内 NADH/NAD⁺ 较高, 同时在一些生物还原酶的作用下, Cu^{2+} 被还原为 Cu^{+} , 并“释放”了生物素-组氨酸-Cu(I), BODIPY-

cyclen 则游离出来而表现出强烈的荧光。在高通量流式细胞术条件下, 利用 **52** 测定了 $CoCl_2$ 处理过的癌细胞中的乏氧度, 为 $(1.15 \pm 0.1)\% pO_2$ (RSD 8.7%), WB 定量分析也验证了该结果。乏氧现象是目前已知的癌细胞的共性之一, 该成果为设计新型靶向癌细胞并可用于研究癌细胞的乏氧机制及调节的探针提供了借鉴思路。

唐瑜课题组^[70]以 Eu^{3+} 为中央处理器(CPU), 镶嵌于 cyclen, 并以三联吡啶基团作为手臂(也是识别基团) 制备了 1 个具有三重识别功能的分子机器人 **53**: UV-Vis 识别 Fe^{2+} ; 光致发光识别 Zn^{2+} ; MRI 识别

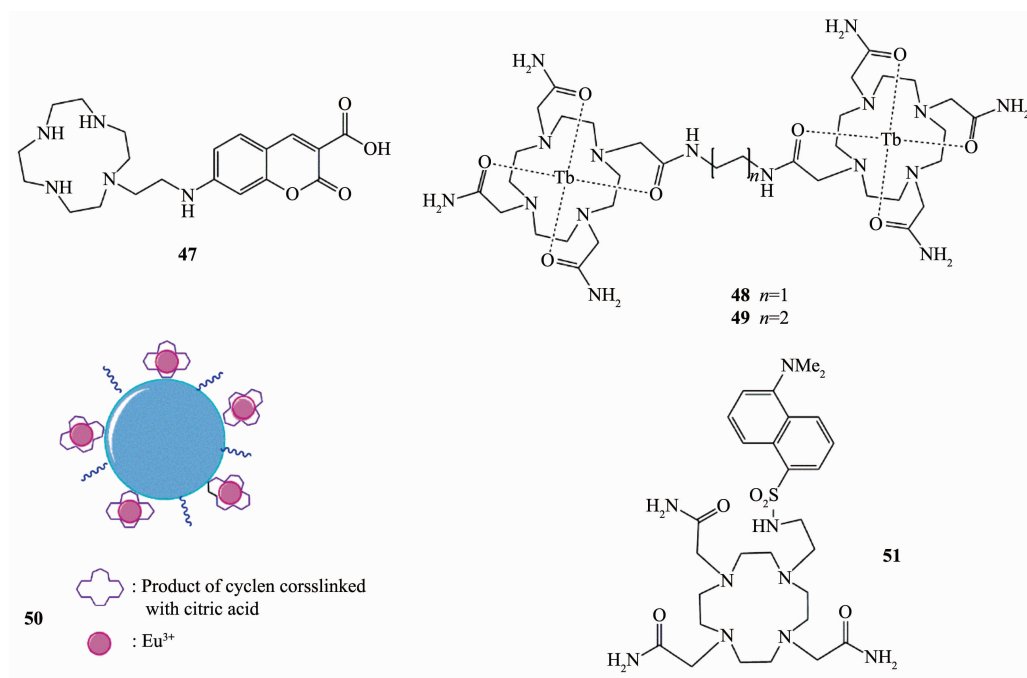


图 11 探针 **47~51** 的结构

Fig.11 Structures of fluorescent probes **47~51**

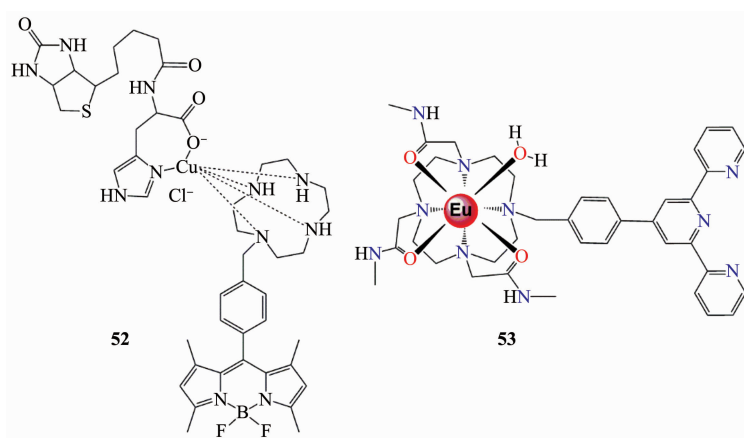


图 12 探针 **52** 和 **53** 的结构

Fig.12 Structures of fluorescent probes **52** and **53**

Mn²⁺。理论计算表明每个过渡金属离子分别与2个探针分子形成1:2的复合物。加入Fe²⁺,紫外-可见吸收光谱在569 nm处产生新的吸收峰,溶液颜色由无色变为粉色,计算可得对Fe²⁺的检测限为0.36 μmol·L⁻¹。光致发光光谱表明,仅仅在加入Zn²⁺时,Eu³⁺的特征荧光峰(617 nm, ⁵D₀→⁷F₂)显著增强,其对Zn²⁺的检测限达16 nmol·L⁻¹。在MRI中,没有Mn²⁺时,探针分子**53**的弛豫率为1.06 mmol⁻¹·L·s⁻¹,加入0.5倍量的Mn²⁺后,弛豫率增加到5.56 mmol⁻¹·L·s⁻¹,以弛豫率对c_{Mn²⁺}作图可求得探针**53**对Mn²⁺的检测限为0.1 μmol·L⁻¹。在上述3种识别模式的基础上,作者还分别构建了与之对应的3种分子逻辑门:OR、INH及YES。另外,**53**还可用于实际生物样品如人尿液中的Fe²⁺和Zn²⁺检测,具有良好的回收率及精确度。

7 总结与展望

大环多胺是一类含有多个N原子而可以被修饰连接各种官能团的优良阳离子配体,它能直接作为H⁺及金属离子的识别基团,也可以与金属离子作用后构建得到各种配合物,包括过渡金属配合物与稀土配合物,并用于阴离子、生物活性小分子、生物大分子等的荧光检测。因此,大环多胺在荧光探针的设计、合成与应用方面得到了广泛关注,不断涌现出优秀的成果。尽管如此,但取得突破性进展和真正实现在医学检验、生化分析、环境监测等领域的商业化应用还有一定距离。主要原因可能有:(1)大环多胺的合成困难,路线较长而产率较低,加上后续的功能化与衍生化,成本高昂。以本课题组常用的pyclen为例,取2,6-吡啶二甲醇和二乙烯三胺为起始原料,需经过溴代、苯磺酰化、成环、脱除苯磺酰基等主要步骤,合成周期长,综合产率约20%。最常见的cyclen等可以通过商业途径购得,但价格昂贵。(2)探针本身的水溶性、亲脂性,探针对目标底物的选择性、灵敏性和作用后的荧光量子产率,以及对细胞的兼容性、透过性或组织的靶向性和荧光穿透深度等还达不到实际分析的要求。(3)现有检测仪器或手段的局限性。综合以上分析,要实现大环多胺型荧光探针的实际应用,需要有机化学、分析化学、生物化学、材料化学等学科的广泛交叉和融合。实践方面,优化大环多胺的合成路线,开发近红外甚至远红外区的荧光团,引入水溶性取代基,增加亲脂性官能团、制成纳米材料等值得重点

关注。理论层面,如何提高量子产率、荧光寿命,如何从构效关系上阐述荧光传感机理并指导和优化荧光探针的设计,是未来研究者亟需破解的难题。此外,开发双功能或多功能,如诊疗一体化荧光探针,光学-光声等多模态成像,及光纤导入光动力治疗等领域,都将迎来新的机遇和下一个春天。

参考文献:

- [1] Sousa L R, Larson J M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**,**99**(1):307-310
- [2] De Silva A P, De Silva S A. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**,**23**:1709-1710
- [3] Czarnik A W. *Acc. Chem. Res.*, **1994**,**27**(10):302-308
- [4] Huo Y, Miao J, Han L, et al. *Chem. Sci.*, **2017**,**8**(10):6857-6864
- [5] Jung Y, Ju I G, Choe Y H, et al. *ACS Sens.*, **2019**,**4**(2):441-449
- [6] Wang J, Hao Y, Wang H, et al. *J. Agric. Food Chem.*, **2017**, **65**(13):2883-2887
- [7] Duan C, Zhang J, Hu Y, et al. *Dyes Pigments*, **2019**,**162**:459-465
- [8] Yin C, Xiong K, Huo F. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, **56**(43):13188-13198
- [9] Yin J, Jiao Y, Peng X, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2020**,in press. DOI:10.1016/j.bios. 2020.112026
- [10] Daly B, Ling J, de Silva A P. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**,**44**(13):4203-4211
- [11] Jia X, Chen Q, Yang Y, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**,**138** (34):10778-10781
- [12] QIU Lin(邱琳), JI Yi-Fan(季一凡), ZHU Cheng-Cheng(朱成成), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2014**,**30** (1):169-178
- [13] Liu T, Huang Z, Feng R, et al. *Dyes Pigments*, **2020**,**174**, 108102. DOI:10.1016/j.dyepig. 2019.108102
- [14] Yu Q, Zhang X, Wu S T, et al. *Chem. Commun.*, **2020**,**56** (15):2304-2307
- [15] Gao M, Tang B. *ACS Sensors*, **2017**,**2**(10):1382-1399
- [16] WANG Xiao-Yong(王晓勇), TAN Ren-Xiang(谭仁祥), GUO Zi-Jian(郭子建). *Chin. J. Org. Chem.*(有机化学), **2003**,**2**: 129-138
- [17] Athey P S, Kiefer G E. *J. Org. Chem.*, **2002**,**67**(12):4081-4085
- [18] Richman J E, Atkins T J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**,**96**(7): 2268-2270
- [19] Su J, Liu Y, Zheng Z, et al. *Chinese Chem. Lett.*, **2007**,**18** (10):1166-1168
- [20] Barefield E K. *Inorg. Chem.*, **1972**,**11**(9):2273-2274

- [21]Tempkin O, Kapa P. *US Patent*, 5811544. 1998-09-22
- [22]Costa J, Delgado R. *Inorg. Chem.*, **1993**,**32**(23):5257-5265
- [23]Stetter H, Frank W, Mertens R. *Tetrahedron*, **1981**,**37**(4): 767-772
- [24]Carvalho J F, Crofts S P, Rocklage S M. *WO Patent*, 9110645. 1991-07-25.
- [25]WU Cheng-Tai(吴成泰), HE Yong-Bing(何永炳). *Chin. J. Org. Chem.*(有机化学), **1983**,**6**:437-439
- [26]MA Jun-Li(马军礼). *CN Patent*, 106588925. 2017-04-26.
- [27]Hoye R C, Richman J E, Dantas G A, et al. *J. Org. Chem.*, **2001**,**66**(8):2722-2725
- [28]Rohini, Baral M, Kanungo B K. *New J. Chem.*, **2018**,**42**(19): 16040-16059
- [29]Huang Y, Liu Y, Liu S, et al. *Eur. J. Org. Chem.*, **2018**,**13**: 1546-1551
- [30]Majzoub A E, Cyril C, Isabelle D O, et al. *Inorg. Chem.*, **2011**,**50**(9):4029-4038
- [31]Tamanini E, Flavin K, Motevalli M, et al. *Inorg. Chem.*, **2010**,**49**(8):3789-3800
- [32]Yasuhiro S, Yoshinao M, Takayuki H. *J. Phys. Chem. A*, **2013**,**117**(16):3387-3395
- [33]Steve C, Sarah A T, Laura K T, et al. *Inorg. Chem.*, **2012**,**51**(19):10158-10168
- [34]Wang M, Zhang D, Li M, et al. *J. Fluoresc.*, **2013**,**23**(3):417-423
- [35]Fang L, Trigianti G, Kousseff C, et al. *Chem. Commun.*, **2018**,**54**(69):9619-9622
- [36]Aurore T, Valerie C P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**,**131**(2):434-435
- [37]Guo R, Wang Q, Lin W. *J. Fluoresc.*, **2017**,**27**(5):1655-1660
- [38]Wang X, Ma X, Yang Z, et al. *Chem. Commun.*, **2013**,**49**(96):11263-11265
- [39]Zhou R, Li B, Wu N, et al. *Chem. Commun.*, **2011**,**47**(23): 9619-9622
- [40]Xu H, Li K, Liu Q, et al. *Analyst*, **2013**,**138**(8):2329-2334
- [41]Wen J, Geng Z, Yin Y, et al. *Dalton Trans.*, **2011**,**40**(38): 9737-9745
- [42]*Mercury Update: Impact on Fish Advisories*, EPA Fact Sheet EPA-823-F-01-011; EPA, Office of Water, Washington, DC, **2001**.
- [43]Bazzicalupi C, Caltagirone C, Cao Z, et al. *Chem. Eur. J.*, **2013**,**19**(43):14639-14653
- [44]Choi J, Lee S K, Bae J, et al. *Tetrahedron Lett.*, **2014**,**55**(38):5294-5297
- [45]Kim S H, Kim J S, Park S M, et al. *Org. Lett.*, **2006**,**8**(3): 371-374
- [46]Liu T, Nonat A, Beyler M, et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**,**53**(28):7259-7263
- [47]Zhang Y, Gao Y, Shi Y, et al. *Chin. Chem. Lett.*, **2015**,**26**(7):894-898
- [48]Ding A, Shi Y, Zhang K, et al. *Sensor Actuat. B: Chem.*, **2018**,**255**:440-447
- [49]Wen J, Geng Z, Yin Y, et al. *Dalton Trans.*, **2011**,**40**(9): 1984-1989
- [50]Wang X, Zhang Z, Ma X, et al. *Talanta*, **2015**,**137**:156-160
- [51]McMahon B K, Gunnlaugsson T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, **134**(26):10725-10728
- [52]Wang X, Ma X, Wen J, et al. *Talanta*, **2020**,**207**:120311
- [53]Li Z, Geng Z, Zhang C, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, **72**:1-9
- [54]CHEN Yun-Long(陈云龙), WANG Ming-Hui(王明慧). *J. Qingdao Uni. Sci. Tech: Natural Science Edition*(青岛科技大学大学学报:自然科学版), **2012**,**33**(4):372-376
- [55]Sasakura K, Hanaoka K, Shibuya N, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**,**133**(45):18003-18005
- [56]Liu J, Guo X, Hu R, et al. *Anal. Chem.*, **2016**,**88**(1):1052-1057
- [57]Wu H, Krishnakumar S, Yu J, et al. *Chem. Asia J.*, **2014**,**9**(12):3604-3611
- [58]Palanisamy S, Lee L, Wang Y, et al. *Talanta*, **2016**,**147**:445-452
- [59]Mirra S, Strianese M, Pellecchia C. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2017**,**33**:3900-3907
- [60]Inclan M, Guijarro L, Pont I, et al. *Chem. Eur. J.*, **2017**,**23**(63):15966-15973
- [61]Zhu Z, Wang S, Wei D, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2016**, **85**:792-797
- [62]Viehweiger K, Barbaro L, Garcia K P, et al. *Bioconjugate Chem.*, **2014**,**25**(5):1011-1022
- [63]Song S, Liu D, Peng J, et al. *Int. J. Pharm.*, **2008**,**363**(1/2): 155-161
- [64]Kikuchi K, Hashimoto S, Mizukami S, et al. *Org. Lett.*, **2009**, **11**(13):2732-2735
- [65]Akiba H, Sumaoka J, Komiyama M. *Chem. Eur. J.*, **2009**,**16**(17):5018-5025
- [66]Liu J, Zhang S, Zhang C, et al. *Chem. Commun.*, **2017**,**53**(83):11476-11479
- [67]Shen Z, Zhang C, Yu X, et al. *J. Mater. Chem. C*, **2018**,**6**(36):9636-9641
- [68]Aoki S, Kawatani H, Goto T, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, **123**(6):1123-1132
- [69]Li Z, Zhu Z, Sun Z, et al. *Sensor Actuat. B: Chem.*, **2019**, **282**:541-548
- [70]Chen H, Cao J, Zhou P, et al. *Biosens. Bioelectron.*, **2018**, **122**:1-7