

基于竞争配位的 Ca^{2+} 特异性响应 $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ 磁共振成像分子探针

陈洪明 唐小雪 林雅滢 龚玄清 林泓域 高锦豪*

(厦门大学化学化工学院化学生物学系, 谱学分析与仪器教育部重点实验室,
福建省化学生物学重点实验室, 厦门 361005)

摘要: 合成了一种含 ^{19}F 的 Mn^{2+} 配合物 3,12-二(2-氧代-2-((2,2,2-三氟乙基)氨基)乙基)-6,9-二氧杂-3,12-二氮杂十四烷酸锰(II) ($\text{Mn}(\text{II})\text{-L}$, **1**), 可实现对 Ca^{2+} 特异响应的 $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ 磁共振成像分析。 ^{19}F 核在近距离的顺磁性 Mn^{2+} 影响下产生了顺磁弛豫增强作用, 使 ^{19}F 的横向弛豫时间 T_2 急剧缩短而磁共振信号锐减。当有 Ca^{2+} 存在时, 与配体 L 的竞争配位使得 ^{19}F 远离 Mn^{2+} 离子, 从而 ^{19}F 磁共振信号得到恢复。同时, 由于 Mn^{2+} 离子从配合态变为游离态, 水配位数增加使得其对 ^1H 的纵向弛豫时间 T_1 弛豫性能增加, 从而 ^1H 磁共振成像信号也增强。相关实验的结果证实了该配合物是一种能对 Ca^{2+} 特异性响应的 $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ 磁共振成像探针。

关键词: 含氟配体; 核磁共振波谱; 钙; 锰; 磁共振成像; $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ 磁共振成像探针; 顺磁弛豫增强; 竞争配合

中图分类号: O614.7+11 文献标识号: A 文章编号: 1001-4861(2020)06-1072-07

DOI: 10.11862/CJIC.2020.133

A Ca^{2+} -Responsive $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ MRI Molecular Probe Based on Competitive Coordination

CHEN Hong-Ming TANG Xiao-Xue LIN Ya-Ying GONG Xuan-Qing LIN Hong-Yu GAO Jin-Hao*

(The MOE Laboratory of Spectrochemical Analysis & Instrumentation, The Key Laboratory for
Chemical Biology of Fujian Province, and Department of Chemical Biology,
College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: Herein, we report a complex manganese(II) 3,12-bis(2-oxo-2-((2,2,2-trifluoroethyl)amino)ethyl), 9-dioxo-3,12-diazatetradecanediate ($\text{Mn}(\text{II})\text{-L}$, **1**) as a Ca^{2+} -responsive $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ magnetic resonance imaging (MRI) molecular probe. Transversal relaxation time T_2 of ^{19}F nuclei is shortened dramatically by the paramagnetic relaxation enhancement (PRE) effect imposed by paramagnetic Mn^{2+} ions, resulting in significantly decreased ^{19}F MRI signals. Mn^{2+} ions can be specifically replaced by Ca^{2+} ions via competitive coordination, leading to the increased distance between Mn^{2+} ions and ^{19}F nuclei and the recovery of ^{19}F MRI signals. At the same time, the higher longitudinal relaxivity r_1 of free Mn^{2+} ions also brings about brighter ^1H MRI signals. As demonstrated by our experiments, this complex is a Ca^{2+} -responsive molecular probe for $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ MRI.

Keywords: fluorinated ligands; NMR spectroscopy; calcium; manganese; magnetic resonance imaging (MRI); $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ MRI probe; paramagnetic relaxation enhancement (PRE); competitive coordination

0 引言

钙离子对几乎所有细胞的信号转导都必不可少, 参与从胚胎发生到神经功能的各个生命过程^[1]。

动物体液和组织中的总钙浓度为 2.1~2.6 mmol·L⁻¹^[2], 以自由离子、有机配合物和无机物小分子 3 种形式存在^[3]。由于自身的电荷、离子半径、可极化性等特性, Ca^{2+} 具有从 6 到 12 的灵活的配位数。特殊

收稿日期: 2020-03-13。收修改稿日期: 2020-04-22。

国家自然科学基金(No.21771148, 21521004)、福建省自然科学基金(No.2018J01011)和中央高校基本科研业务费(No.20720200005)资助项目。

*通信联系人。E-mail: jhgao@xmu.edu.cn

的配位能力使得生物体可以通过有机小分子配体和 Ca^{2+} 具有强亲和力配位位点的蛋白来调控不同形式的 Ca^{2+} 在生物体内不同时空区域的浓度及比例,以发挥 Ca^{2+} 信号传递作用。细胞内的游离 Ca^{2+} 浓度通常可以比细胞外低 4 个数量级^[9]。 Ca^{2+} 作为信号载体参与调控细胞行使各种生理功能的过程,但其浓度平衡被打破则会产生毒性并导致细胞的死亡。脑血管疾病导致的死亡占全世界所有死亡人数的 9.6%,而局域脑缺血情况的检测和监控对临床诊断和治疗脑血管疾病具有重要意义^[5-6]。缺血脑区的葡萄糖氧化会被严重影响,导致三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)不能正常产生,引发一系列有害的生化生理过程。例如,局域 Ca^{2+} 平衡会被严重破坏而导致细胞急性或慢性死亡^[7]。脑缺血时,局域的细胞外 Ca^{2+} 浓度会急剧下降,临床上可以通过及时灌注来重新建立 Ca^{2+} 的平衡达到治疗效果^[8]。因此, Ca^{2+} 在生命体内分布的活体原位成像分析对生命科学和生物医学具有重要意义。

虽然荧光方法在细胞层面可以很好地分析检测 Ca^{2+} 信息,但其有限的生物组织穿透深度严重限制了其实际应用。磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)是一种临床广泛使用的有效生物成像

技术,具有软组织高分辨率,非介入,无电离辐射,不受穿透深度限制等优点。为了获得更准确的成像信息,临床上常需要造影剂辅助。虽然具有功能性响应的 ^1H MRI 造影剂被广泛研究^[9-12],其中也有一些金属离子检测的报道^[13],但人体内存在大量的水, ^1H MRI 的背景干扰严重。 ^{19}F 核具有低生物背景、宽化学位移和高灵敏度等优点,因此在生物活性小分子检测方面 ^{19}F MRI 具有一定优势^[14]。近年来,构建 ^{19}F MRI 探针检测生物标志物的报道也逐渐增加^[15-19]。检测金属离子的 ^{19}F MRI 研究也有一些报道,但仍有一些问题需要克服,例如,检测 Ca^{2+} 的探针存在信号单一或非阳性信号响应等问题^[20-21]。另一方面,目前临床使用的 ^1H MRI 造影剂主要基于 Gd^{3+} ,其毒性等问题未能完全克服^[22],因而基于 Mn^{2+} 的 ^1H MRI 造影剂的开发近来已引起科学家的重视^[23-24]。我们把 ^{19}F 引入到对 Ca^{2+} 有强亲和力^[25]的小分子配体的结构中,利用顺磁性 Mn^{2+} 对 ^{19}F 的偶极相互作用,即顺磁弛豫增强(paramagnetic relaxation enhancement, PRE)效应,调控 ^{19}F MRI 信号,水配位数调控 Mn^{2+} 对 ^1H MRI 造影效果^[26],从而通过竞争配位策略,构建了对 Ca^{2+} 离子实现特异性阳性信号响应的 $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ MRI 分子探针 $\text{Mn}(\text{II})\text{-L}$ (**1**)(图 1)。

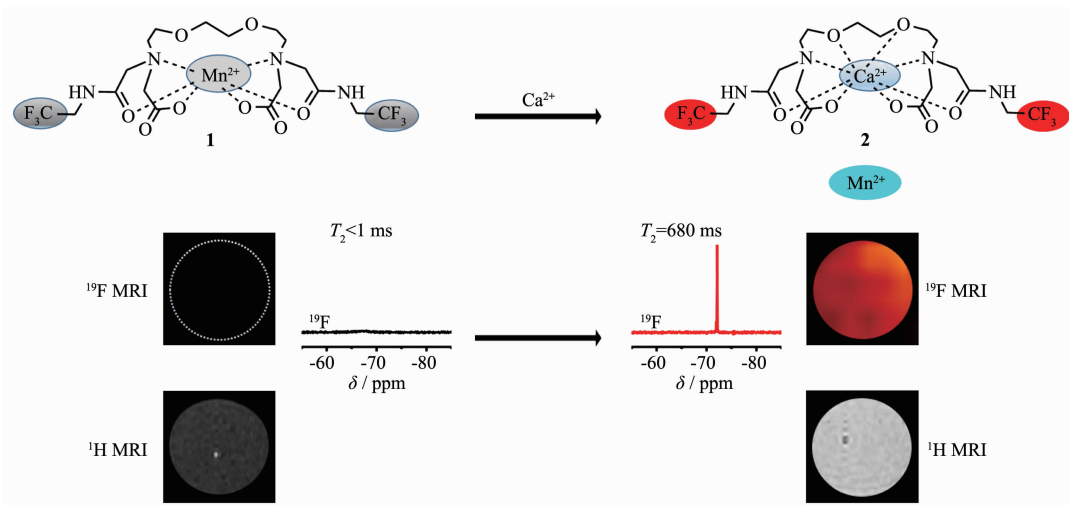


图 1 探针 **1** 对 Ca^{2+} 响应的示意图

Fig.1 Schematic illustration showing the response of probe **1** to Ca^{2+}

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Avance III 500 MHz NMR 谱仪(布鲁克公司,合成实验的 NMR 表征); Avance III 600 MHz NMR 谱仪(布鲁克公司,探针响应性质实验测试); 纽迈 0.5 T

NMI20 Analyst 系统 (0.5 T 弛豫率测试和 ^1H MRI); 9.4 T BioSpec MRI 系统 (布鲁克公司, 9.4 T ^{19}F MRI); Esquire 3000 Plus 质谱仪(布鲁克公司); 高效液相色谱系统(岛津公司,产物分离纯化), 色谱柱 (Waters 公司, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 mm \times 250 mm; 总流速: 10 mL \cdot min⁻¹)。所用溶剂均为分析

纯市售国药;反应试剂购买于伊诺凯、百灵威、阿拉丁和阿尔法公司,纯度均不低于 97%。

1.2 化合物的合成及表征

探针 Mn(II)-L(**1**)合成路线示意图如图 2 所示。

化合物 **3** 的合成:在圆底烧瓶中将 2,2,2-三氟乙胺(2.5 g,25 mmol)溶解于 60 mL CHCl₃,加入 20 mL K₂CO₃ 水溶液(5.2 g,38 mmol),反口塞密封并插 N₂ 气球,用低温反应釜将溶液冷却到 5 °C。在搅拌下把 20 mL 溴乙酰溴的 CHCl₃ 溶液(7.5 g,38 mmol)于 30 min 内滴加到上述两相溶液中,把反应体系转移到室温继续搅拌 15 h。除去水相,有机相用饱和 NaHCO₃ 水溶液洗 1 次,再用纯水洗 3 次,无水 Na₂SO₄ 干燥后旋蒸得白色固体产品 **3** (2.4 g,87%):¹H NMR (500 MHz,CDCl₃): δ 4.00~3.90(m,4H),6.83(1H,NH);¹⁹F NMR(470 M,CDCl₃): δ -72.41(s)。

化合物 **4** 的合成:将 2,2'-(亚乙基二氧)双(乙胺) (0.75 g,5 mmol)溶解于 30 mL 甲醇,室温下滴加入苯甲醛(1.3 g,12 mmol)后,于 65 °C 搅拌回流 5 h。冷却到室温后分多次加入 NaBH₄(1.5 g,40 mmol),继续搅拌 5 h 后旋蒸除去溶剂。用二氯甲烷

(dichloromethane,DCM)溶解,水洗 3 次,旋蒸除去溶剂。DCM 和 MeOH(体积比为 100:1~100:7)过硅胶柱纯化得浅黄色油状液体产品 **4**(1.8 g,82 %):¹H NMR (500 MHz,CD₃OD): δ 7.20~7.34 (m,10H,Ar-H),3.74 (s,4H,Ar-CH₂),3.56~3.60(m,8H,CH₂OCH₂),2.73 (t, J =5 Hz,4H,NCH₂);ESI-MS (m/z) C₂₀H₂₈N₂O₂ 理论值 (M+H)⁺ 328.2,测得 329.6。

化合物 **5** 的合成:在圆底烧瓶中将 **4** (1.0 g,3 mmol)溶解于 40 mL DCM,加入 *N,N*-二异丙基乙胺 (*N,N*-diisopropylethylamine,DIPEA)(1.3 g,10 mmol),反口塞密封并插 N₂ 气球,用低温反应釜将溶液冷却到 -20 °C。在搅拌下把 10 mL 溴乙酸叔丁酯的 DCM 溶液(1.28 g,6.6 mmol)于 1 h 内滴加到反应液中,把反应体系转移到室温继续搅拌 20 h。水洗 3 次后旋蒸除去溶剂。MeOH 和 DCM(体积比值为 0~1/100)过硅胶柱纯化得无色油状液体产品 **5** (1.3 g,78%):¹H NMR (500 MHz,CD₃OD): δ 7.18~7.35(m,10H,Ar-H),3.79(s,4H,Ar-CH₂),3.58(t, J =5.5 Hz,4H,CH₂O),3.55 (s,4H,OCH₂CH₂O),3.27 (s,4H,CH₂COO),2.85 (t, J =6.0 Hz,4H,NCH₂),1.45(s,18H,C(CH₃)₃);ESI-MS (m/z)

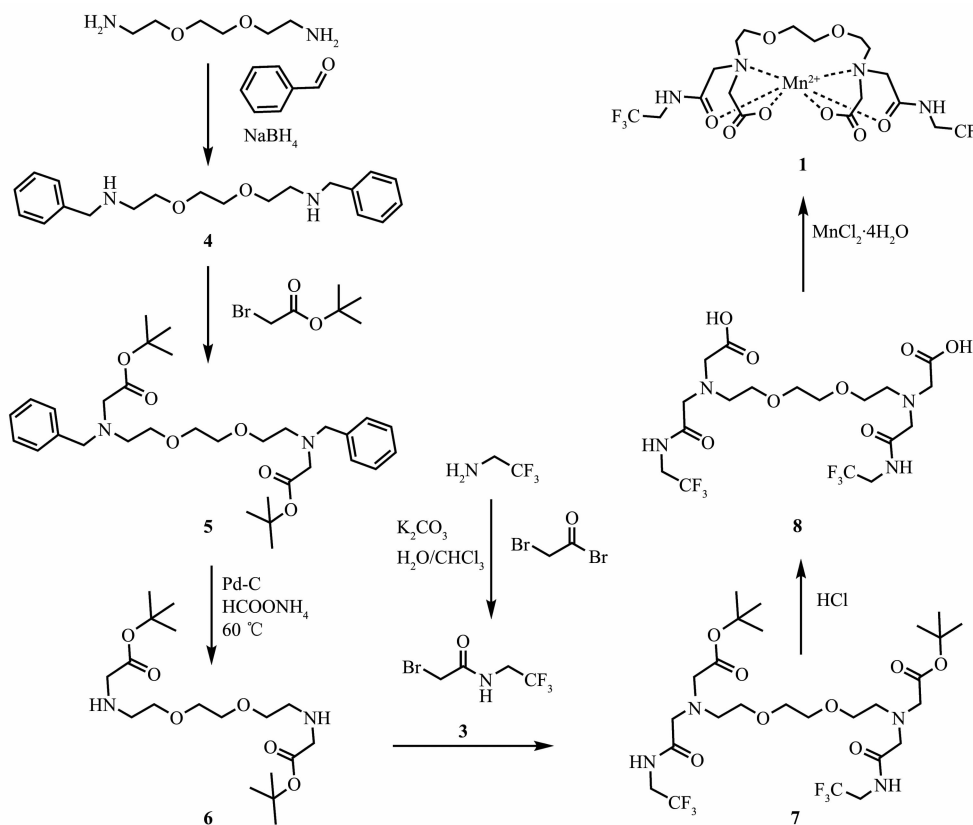


图 2 探针 **1** 合成路线示意图

Fig.2 Schematic illustration showing the synthesis of probe **1**

$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6$ 理论值($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 557.4, 测得 557.5。

化合物 **6** 的合成: 将 **5** (1.12 g, 2 mmol) 和甲酸铵 (0.63 g, 10 mmol) 溶于 60 mL 甲醇, 加入 10% 的钨碳 (1.0 g) 后于 65 °C 搅拌回流 5 h。冷却到室温后用硅藻土过滤, 滤液旋蒸除去溶剂后用 DCM 溶解并水洗 3 次, 无水 Na_2SO_4 干燥后旋蒸得油状液体产品 **6** (0.65 g, 86%): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 3.61 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58 (t, $J=6.5$ Hz, 4H, CH_2O), 3.31 (s, 4H, CH_2COO), 2.78 (t, $J=6.5$ Hz, 4H, NCH_2), 1.45 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); ESI-MS (m/z): $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$ 理论值($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 377.3, 测得 377.7。

化合物 **7** 的合成: 在圆底烧瓶中将 **6** (0.65 g, 2 mmol) 和 DIPEA (1.2 g, 4 mmol) 溶于 60 mL DCM。反口塞密封并插 N_2 气球, 冷却到 -20 °C, 滴加入 10 mL **3** (1.1 g, 2.4 mmol) 的 DCM 溶液, 反应体系转移到室温继续搅拌 16 h。旋蒸除溶剂后用 DCM 溶解, 再水洗 3 次, 有机相用无水 Na_2SO_4 干燥, 旋蒸除去溶剂, 过硅胶柱纯化得白色固体产品 **7** (0.82 g, 73 %): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 3.87~3.94 (m, 4H, CF_3CH_2), 3.56 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.51 (t, $J=5.0$ Hz, 4H, CH_2O), 3.39 (s, 4H, CH_2COO), 3.35 (s, 4H, CH_2COO), 2.87 (t, $J=5$ Hz, 4H, NCH_2), 1.45 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); ^{19}F NMR (470 MHz, CDCl_3): δ -72.28; ESI-MS (m/z) $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_8$ 理论值($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 655.3, 测得 655.3。

化合物 **8** 的合成: 将 **7** (0.65 g, 1 mmol) 溶于 10 mL 乙酸, 加入 10 mL 36% (w/w) 浓盐酸, 室温搅拌 10 h 后旋蒸除去溶剂。以水/乙腈为淋洗剂过高效液相色谱 (HPLC) 纯化得白色固体产品 **8** (0.45 g, 82%): ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 3.93~3.98 (m, 4H, CF_3CH_2), 3.65 (t, $J=5.0$ Hz, 4H, CH_2O), 3.63 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.60 (s, 8H, $\text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.05 (t, $J=5$ Hz, 4H, NCH_2); ^{19}F NMR (470 MHz, CDCl_3): δ -73.73; ESI-MS (m/z) $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_8$ 理论值($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 543.2, 测得 543.3。

探针 **1** 的合成: 将 **8** (0.2 g, 0.37 mmol) 溶于 20 mL 水中, 用 1 mmol·L $^{-1}$ NaOH 溶液把 pH 值调到 7.5。加入 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (88 mg, 0.45 mmol), 用稀 NaOH 溶液 (0.1 mmol·L $^{-1}$) 缓慢调节 pH 值到 7, 搅拌 30 min 后过 HPLC 纯化 (水/甲醇为淋洗剂), 冻干得白色固体产品 **1** (0.17 g, 76%): ^{19}F NMR (564 MHz, D_2O): δ -67.2 (严重展宽); ESI-MS (m/z) $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{F}_6\text{MnN}_4\text{O}_8$ 理论值($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 595.4, 测得 596.0。

1.3 探针对 Ca^{2+} 响应的 T_2 性质测试

相同浓度的探针 **1** (1 mmol·L $^{-1}$) 分别与不同浓度

CaCl_2 在 Tris 缓冲液 (pH=7.4) 中进行反应, 在反应不同时间点分别测其 ^1H 的 T_2 值 (0.5 T)。

1.4 探针对 Ca^{2+} 响应的 ^{19}F NMR 和 ^1H MRI 性质测试

相同浓度探针 **1** (1 mmol·L $^{-1}$) 分别与不同浓度 CaCl_2 在 Tris 缓冲液 (pH=7.4) 中进行反应, 反应时间均为 30 min, 反应后分别测其 ^{19}F NMR (14.1 T, 564 MHz) 谱和 ^1H MRI (0.5 T)。

1.5 探针响应前后弛豫率 r_1 的变化及 ^1H MRI 测试

探针 **1** (1 mmol·L $^{-1}$) 及其与 CaCl_2 (5 mmol·L $^{-1}$) 在 Tris 缓冲液 (pH=7.4) 中反应后分别逐级稀释后测 ^1H 的 T_1 值及 MRI (0.5 T); 不同浓度的探针与 5 mmol·L $^{-1}$ 探针反应后测 ^1H MRI (0.5 T)。

1.6 探针选择性测试

探针 **1** (1 mmol·L $^{-1}$) 与不同金属离子在 Tris 缓冲液 (pH=7.4) 中反应 30 min 后分别测反应液的 ^{19}F NMR 谱 (14.1 T, 564 MHz) 和 ^1H 的 T_1 值 (0.5 T)。

1.7 探针对 Ca^{2+} 响应的 ^{19}F MRI 性质测试

探针 **1** (5 mmol·L $^{-1}$) 与不同浓度 CaCl_2 在 Tris 缓冲液中反应后在进行 ^{19}F MRI 测试 (9.4 T)。

1.8 探针对血清和血浆中 Ca^{2+} 响应的 ^{19}F NMR 测试

向用生理盐水稀释 10 倍的小鼠血清和血浆中加入探针 **1** (终浓度为 0.1 mmol·L $^{-1}$) 和 10% (V/V) 的 D_2O , 反应后进行 ^{19}F NMR 测试 (14.1 T, 564 MHz)。

2 结果与讨论

2.1 探针 **1** 对 Ca^{2+} 响应的 ^1H 的 T_2 性质测试

相同浓度探针 **1** 分别与不同浓度 Ca^{2+} 反应, 其反应液 ^1H 的 T_2 均 1 min 达到恒定值, 表明 Ca^{2+} 对 Mn^{2+} 的取代反应都很快就能完成 (图 S1)。其中, T_2 是指横向弛豫时间, 是施加 90° 脉冲后横向磁化矢量衰减到 37% 所需要的时间。同时, 反应后的 T_2 随 Ca^{2+} 浓度的增加而变短 (图 3a), 表明有更多 Mn^{2+} 被 Ca^{2+} 从配体上取代而变为游离态。当 Ca^{2+} 浓度达到探针的 10 倍时, T_2 不再随 Ca^{2+} 浓度增加而变化, 表明此时 Mn^{2+} 基本都被取代而变为游离态。因此, 通过 ^1H 的 T_2 值表征可知, Ca^{2+} 对 Mn^{2+} 的取代反应动力学很快, 探针能实现快速响应, 且 Ca^{2+} 浓度为探针 5 倍时, 大部分探针已经反应完成。ESI-MS 表征的分子量在与 Ca^{2+} 反应后从 596.0 变为 581.0, 进一步确认了探针中的 Mn^{2+} 被 Ca^{2+} 所取代 (图 S2)。

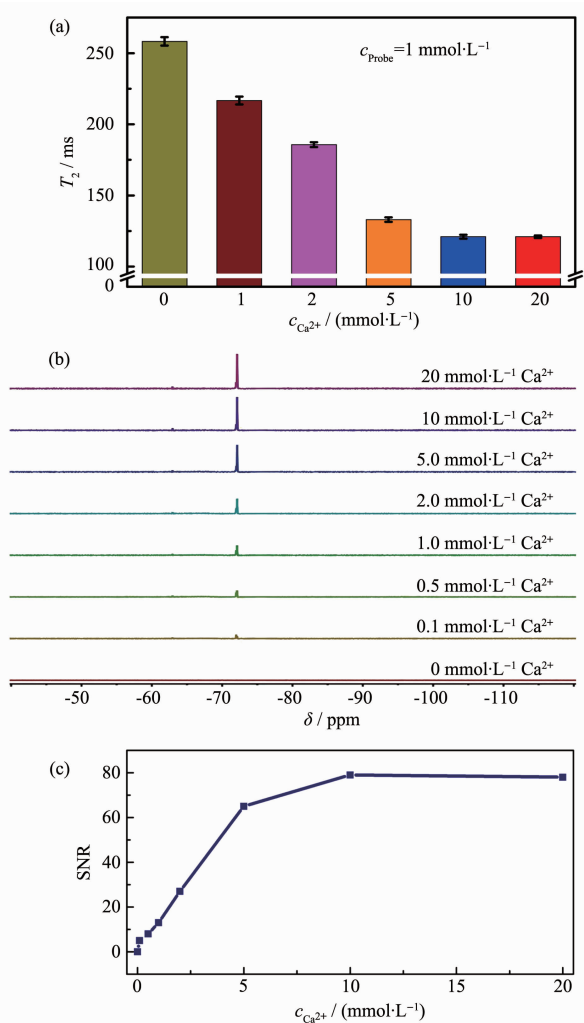


图3 通过(a) ^1H 的 T_2 变化和(b) ^{19}F NMR 表征 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 探针 **1** 对不同浓度 Ca^{2+} 的响应; (c) 为(b) 相应的信噪比曲线(对应 -72.1 的峰)

Fig.3 Response of probe **1** ($1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) to Ca^{2+} with different concentrations based on (a) T_2 of ^1H and (b) ^{19}F NMR; (c) Corresponding SNRs of the peak at -72.1 in (b)

2.2 探针 **1** 对 Ca^{2+} 响应的 ^{19}F NMR 性质测试

通过前面的 T_2 性质表征得到了探针 **1** 对 Ca^{2+} 响应的的时间和浓度参数, 我们进一步测试了其 ^{19}F NMR 信号的响应情况。如图 1 和图 3(b,c) 所示, 探针 **1** 的 ^{19}F NMR 谱图中, 由于顺磁性 Mn^{2+} 的近距离顺磁弛豫增强(paramagnetic relaxation enhancement, PRE) 作用导致 ^{19}F 核的 T_2 从 680 ms 急剧缩短到 1 ms 以下, 从而引起谱峰严重展宽。当加入 Ca^{2+} 后, 在 -72.1 位置出现了尖锐的谱峰, 且谱峰的信噪比(signal-to-noise ratio, SNR) 随着 Ca^{2+} 浓度的增加而增加, 其变化趋势与 T_2 性质一致。因此, 该探针对 Ca^{2+}

具有很好的 ^{19}F NMR 信号响应。

2.3 探针 **1** 响应前后弛豫率 r_1 的变化及 ^1H MRI 测试

根据 Solomon-Bloembergen-Morgan(SBM)理论^[26], 当探针中的 Mn^{2+} 被 Ca^{2+} 取代后变为游离态时, Mn^{2+} 的水配位数变大, 其对水中 ^1H 的纵向弛豫率 r_1 也会变大。为了获得探针 **1** 在响应前后其 r_1 变化的定量结果, 我们分别测试了 0.5 T 场强下探针自身及探针 ($1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与 Ca^{2+} ($5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 反应后的 r_1 值(如图 4a)。结果显示, 探针的 r_1 为 $2.68 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, 与 5 倍物质的量的 Ca^{2+} 反应后, 其 r_1 变为 $6.26 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, 增加了 1 倍多。图 4b 所示为不同浓度的探针与 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 反应前后的 T_1 权重 ^1H MRI。其中, T_1 是指纵向弛豫时间, 是施加 90° 脉冲后纵向磁化矢量恢复到 63% 所需要的时间。结果也显示探针与 Ca^{2+} 反应后, 其信号都有不同程度的变亮, 表明探针响应后, 其 r_1 变大。因此, 该探针对 Ca^{2+} 具有很好的 ^1H MRI 信号响应。

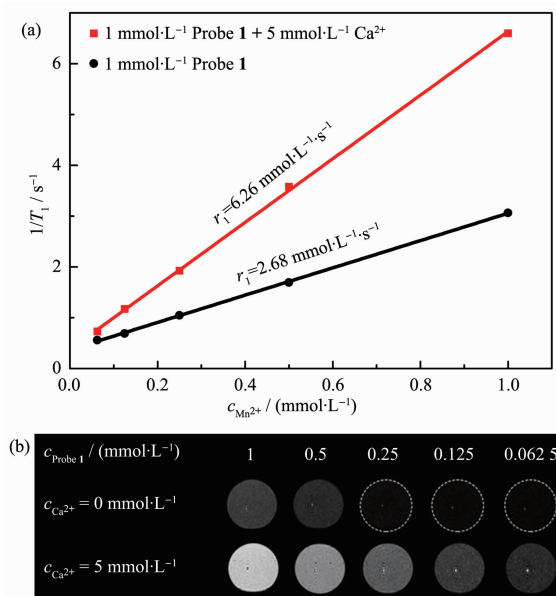


图4 探针响应前后的弛豫率(a) r_1 及(b) ^1H MRI 表征
Fig.4 (a) r_1 and (b) ^1H MRI of probe **1** before and after responding to Ca^{2+}

2.4 探针 **1** 选择性测试

选择性是一个探针的重要性质, 所以我们在研究了响应性质后进一步对探针 **1** 选择性进行研究。如图 5(a,b) 所示, 我们通过 ^{19}F NMR 信号和 ^1H 的 T_1 两个参数的测试研究了体内存在的 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 几种金属离子对探针检测 Ca^{2+} 的干扰。结果显示, 探针 **1** 对 Ca^{2+} 的响应具有很好的选择性。

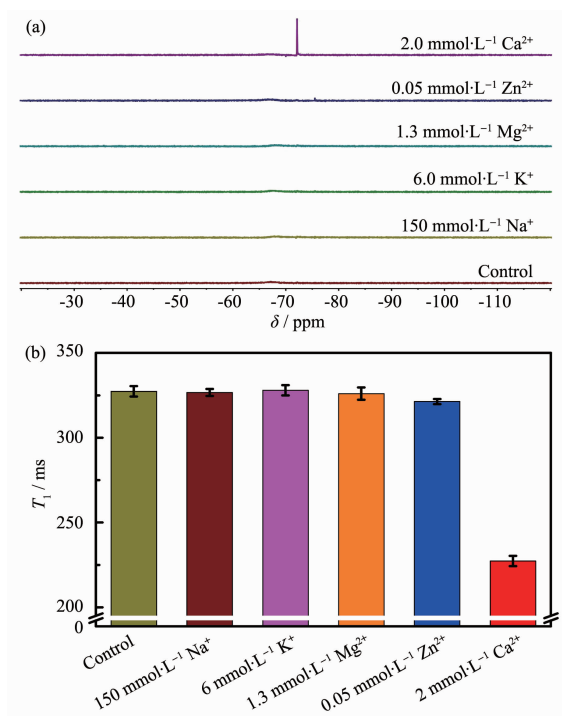


图5 利用(a) ^{19}F NMR和(b) ^1H 的 T_1 表征探针 **1** ($1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的选择性

Fig.5 Selectivity of probe **1** ($1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) characterized by (a) ^{19}F NMR and (b) T_1 of ^1H

2.5 探针 **1** 对 Ca^{2+} 响应的 ^1H MRI(0.5 T)和 ^{19}F MRI(9.4 T)性质测试

我们进一步研究了 0.5 T 下 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 探针 **1** 与不同浓度 Ca^{2+} 响应后 T_1 权重的 ^1H MRI(图 6a)。结果显示,随着 Ca^{2+} 浓度的增加, ^1H MRI 信号逐渐变亮,表明 Mn^{2+} 变为游离态后,其 r_1 变大。该实验结果与之前 r_1 测试结果一致。而 ^{19}F MRI 的结果则如图 6b 所示,由于 ^{19}F 与探针中顺磁性 Mn^{2+} 的距离很近,

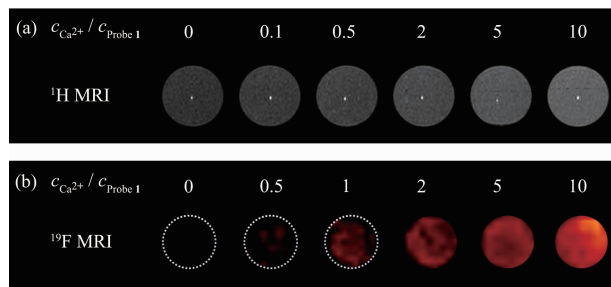


图6 探针 **1** 对不同浓度 Ca^{2+} 响应的 $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ MRI 测试:

(a) $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 探针 **1** 与不同浓度 Ca^{2+} 反应的 ^1H MRI 表征(0.5 T); (b) $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 探针 **1** 与不同浓度 Ca^{2+} 反应的 ^{19}F MRI(9.4 T)表征

Fig.6 (a) ^1H MRI (0.5 T) of $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ probe **1** and (b) ^{19}F MRI (9.4 T) of $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ probe **1** in response to Ca^{2+} with different concentrations

强烈的 PRE 作用使得 ^{19}F 的 T_2 急剧缩短,探针本身的 ^{19}F MRI 信号基本测不到。随着 Ca^{2+} 浓度的增加,在化学位移 -72.1 处的 ^{19}F MRI 信号逐渐变亮,与 ^{19}F NMR 信号变化(图 3)一致,表明该探针对 Ca^{2+} 具有很好的 ^{19}F MRI 信号响应。

2.6 探针对血清和血浆中 Ca^{2+} 响应的 ^{19}F NMR 测试

基于以上对探针性质的研究,我们初步研究了探针对鼠血清和血浆中 Ca^{2+} 响应情况。如图 7 所示,探针分别与血清和血浆作用后,化学位移 -72.1 处的 ^{19}F NMR 信号都得到显著恢复。因此,该探针对血液中的 Ca^{2+} 具有很好的 ^{19}F NMR 信号响应。

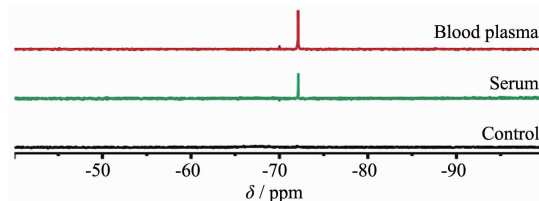


图7 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 探针 **1** 对稀释 10 倍的小鼠血浆和血清响应的 ^{19}F NMR 表征

Fig.7 Response of $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ probe **1** to the blood plasma and serum (diluted by 10 folds) of mice characterized by ^{19}F NMR

3 结论

含 ^{19}F 的小分子配合物探针 $\text{Mn}(\text{II})\text{-L}(\mathbf{1})$ 中的顺磁性 Mn^{2+} 能通过 PRE 效应强烈缩短 ^{19}F 弛豫时间 T_2 , 从而有效降低 ^{19}F 磁共振信号。生理 pH 值条件下, Ca^{2+} 能通过竞争配位特异性地与探针 **1** 快速反应,将 Mn^{2+} 从探针中取代下来。 Mn^{2+} 被取代后变为游离 Mn^{2+} 而远离 ^{19}F , ^{19}F 弛豫时间恢复变长,其磁共振信号(NMR/MRI)得到恢复。同时, Mn^{2+} 由配合态变为游离态,其水配位数增加,对水的 ^1H 弛豫率 r_1 显著变大,从而在探针对 Ca^{2+} 响应后 ^1H MRI 信号显著变化。因此, $\text{Mn}(\text{II})\text{-L}$ 能通过 ^{19}F NMR/MRI 和 ^1H MRI 多重信号变化同时实现对 Ca^{2+} 的特异性检测。探针 **1** 对血浆和血清中 Ca^{2+} 的成功响应,显示出该探针在活体 ^{19}F MRI 检测 Ca^{2+} 中的良好潜力。

Supporting information is available at <http://www.wjhxsb.cn>

参考文献:

[1] Barandov A, Bartelle B B, Williamson C G, et al. *Nat.*

- Commun.*, 2019,10(1):897-905
- [2] Brini M, Calì T, Ottolini D, et al. *Metallomics and the Cell*. Dordrecht: Springer, **2013**:119-168
- [3] Carafoli E, Krebs J. *J. Biol. Chem.*, **2016**,**291**(40):20849-20857
- [4] Bagur R, Hajnoczky G. *Mol. Cell.*, **2017**,**66**(6):780-788
- [5] WHO. *The World Health Report 2002: Reducing Risks, Promoting Healthy Life*. Geneva: World Health Organization, **2002**:188.
- [6] Fisher M. *Cerebrovasc. Dis.*, **2004**,**17**(1):1-6
- [7] Goldberg W J, Kadingo R M, Barrett J N. *J. Neurosci.*, **1986**, **6**(11):3144-3151
- [8] Li P A, Kristián T, Katsura K I, et al. *Exp. Brain Res.*, **1990**, **105**(3):363-369
- [9] Wahsner J, Gale E M, Rodriguez-Rodriguez A, et al. *Chem. Rev.*, **2019**,**119**(2):957-1057
- [10] SUN Cheng-Jie(孙乘杰), LIN Hong-Yu(林泓域), GAO Jin-Hao(高锦豪). *SCIENTIA SINICA Chimica*(中国科学:化学), **2016**,**47**(2):119-132
- [11] Angelovski G. *Acc. Chem. Res.*, **2017**,**50**(9):2215-2224
- [12] Lin H Y, Liu K, Gao J H. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2019**,**34**: 3801-3809
- [13] Que E L, Chang C J. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**,**39**(1):51-60
- [14] Tirotta I, Dichiarante V, Pigliacelli C, et al. *Chem. Rev.*, **2015**,**115**(2):1106-1129
- [15] Cho M H, Shin S H, Park S H, et al. *Bioconjugate Chem.*, **2019**,**30**(10):2502-2518
- [16] Chen H M, Tang X X, Gong X Q, et al. *Chem. Commun.*, **2020**,**56**(29):4106-4109
- [17] Li A, Tang X X, Gong X Q, et al. *Chem. Commun.*, **2019**, **55**(83):12455-12458
- [18] Tang X X, Gong X Q, Li A, et al. *Nano Lett.*, **2020**,**20**(1): 363-371
- [19] Zhu X L, Tang X X, Lin H Y, et al. *Chem*, **2020**,**6**(5):1134-1148
- [20] Bar-Shir A, Gilad A A, Chan K W Y, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**,**135**(33):12164-12167
- [21] Kadjane P, Platas-Iglesias C, Boehm-Sturm P, et al. *Chemistry*, **2014**,**20**(24):7351-7362
- [22] Sun C J, Lin H Y, Gong X Q, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**,**142**(1):198-206
- [23] Pan D, Caruthers S D, Senpan A, et al. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.*, **2011**,**3**(2):162-173
- [24] Botta M, Carniato F, Esteban-Gómez D, et al. *Future Med. Chem.*, **2019**,**11**(12):1461-1483
- [25] Li W H, Fraser S E, Meade T J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, **121**(6):1413-1414
- [26] Helm L. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **2006**,**49**(1):45-64