

图 4-106 施陶丁格连接反应机理图

Mao 等人基于 7-羟基香豆素设计合成出探针分子 77, 用于检测水溶液和血清中的 $\text{HNO}^{[291]}$ 。探针分子本身基本没有荧光, 与 HNO 发生施陶丁格连接反应, 首先生成氮杂叶立德中间体, 然后进一步水解生成具有很强荧光的 7-羟基香豆素, 荧光强度增大 57 倍, 检出限为 20 nmol/L。该探针分子对 HNO 表现出很好的选择性, 并且已成功用于胎牛血清中 HNO 的检测(图 4-107)。

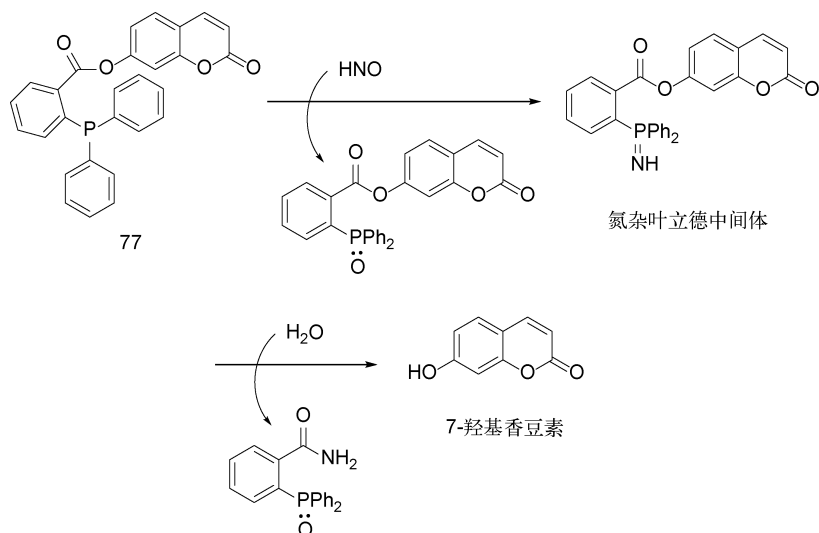


图 4-107 探针 77 的施陶丁格连接反应机理

Hidehiko Nakagawa 等人以罗丹明为母体设计出荧光探针 78, 用于检测 $\text{HNO}^{[292]}$ 。该探针分子由酚酰化的甲氨基和酯与三苯基膦部分连接构成, 本身以关环(无荧光)形式存在。在 HNO 存在的条件下, 二者发生施陶丁格连接反应, 经过上述过程, 探针分子螺内酯环被打开, 分子以开环形式存在, 探针分子在 526 nm 处出现荧光。该探针分子对 HNO 表现出很好的选择性, 可用于检测活细胞中的 HNO (图 4-108)。

Zhang 等人设计出一种双光子荧光探针 79, 用于检测 $\text{HNO}^{[293]}$ 。探针分子本身荧光很弱($\Phi=0.001$), 与 HNO 反应后, 512 nm 处荧光明显增强。当

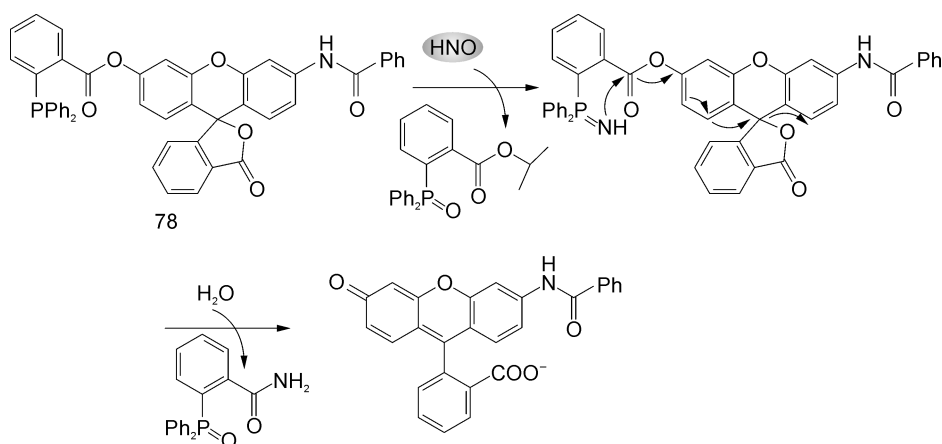


图 4-108 探针 78 的施陶丁格连接反应机理

Angeli 盐(HNO 供体)浓度增加到底物的 15 倍时,反应体系的荧光强度增大了 49 倍,该反应检出限为 5.9×10^{-7} mol/L,这说明探针分子 79 对 HNO 反应很灵敏,并且能够在生理条件下进行,而且可以用于活细胞中的荧光成像,也能够用双光子荧光显微镜对其进行活性组织中的荧光成像(图 4-109)。

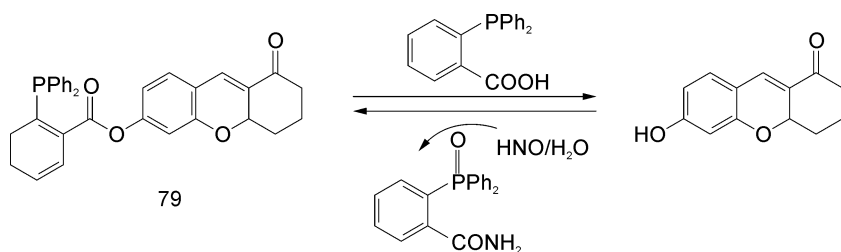


图 4-109 探针 79 的施陶丁格连接反应机理

4.16.12 基于 Cu^{2+} 的还原反应机理检测 HNO

Lippard 等人将 Cu^{2+} 桥接在 BODIPY 染料上设计出探针分子 80,用于检测 HNO^[231]。由于分子内 BODIPY 基团与 Cu^{2+} 之间的 PET 过程使探针分子本身的荧光很弱,与 HNO 反应后, Cu^{2+} 被 HNO 还原成 Cu^{+} ,BODIPY 的荧光得以恢复,反应体系荧光强度增大了 4.3 倍,从而实现了 HNO 的检测。该探针已成功应用于 Hela 细胞系中的荧光成像(图 4-110)。

随后,该课题组又设计出苯并试卤灵荧光探针 81,用于检测 HNO,由于

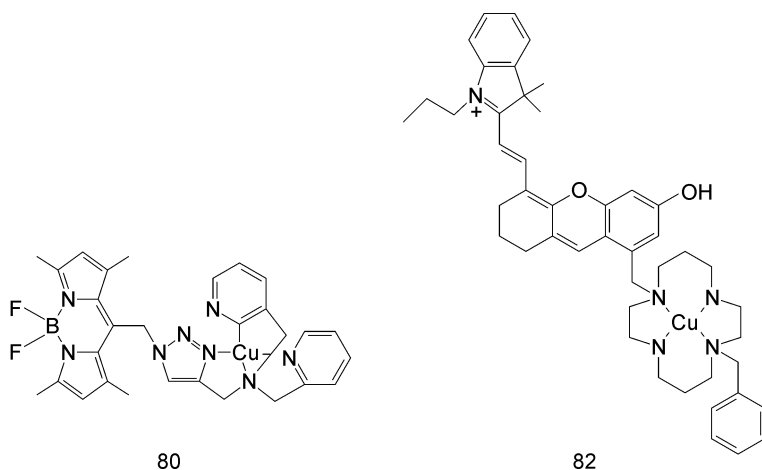
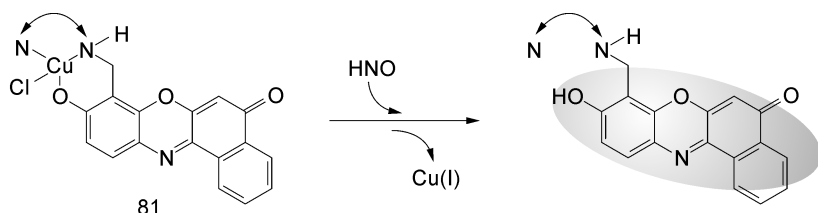


图 4-110 探针 80 和探针 82 的分子结构式

Cu^{2+} 的荧光淬灭作用使得整个分子没有荧光,与 HNO 反应后, Cu^{2+} 被还原成 Cu^+ ,从而恢复了苯并呋喃基团的荧光。该探针分子可用于 HeLa 和 Raw264.7 细胞系中 HNO 的荧光成像。

图 4-111 探针 81 对 HNO 的检测机理

然而,上述荧光探针存在灵敏度低、发射波长短等缺点,因此该课题组又设计出用于检测 HNO 的具有高灵敏度的近红外荧光探针 82,如图 4-110 所示。由于 Cu^{2+} 的荧光淬灭作用,探针分子本身在 715 nm 处荧光很弱,与 HNO 反应后,荧光强度增大将近 5 倍。该探针对 HNO 具有很好的选择性,不受 H_2S 和谷胱甘肽的影响,并且可用于组织中进行成像分析(图 4-111)。

Zhou 等人基于 Cu^{2+} 的还原反应设计出荧光探针 Cu^{2+} -香豆素整合物 83,用于检测 HNO ^[294],由于分子内香豆素酯与 Cu^{2+} 之间的 PET 过程,分子本身没有荧光,与 HNO 反应后, Cu^{2+} 被还原成 Cu^+ ,分子内 PET 过程被阻断,香豆素的荧光得以恢复,该探针分子已成功用于 A375 细胞的荧光成像分析。同样地,该课题组之后又设计出铜(II)香豆素酯复合物 84 用于检测

HNO。与化合物 83 相比,探针分子 84 由于结构上的酯基作用,使其具有更好的细胞膜渗透性,并且该分子探针还用于活细胞中的荧光共聚焦成像,但化合物 84 对 Cys 有少许响应,因此也存在一些缺点(图 4-112)。

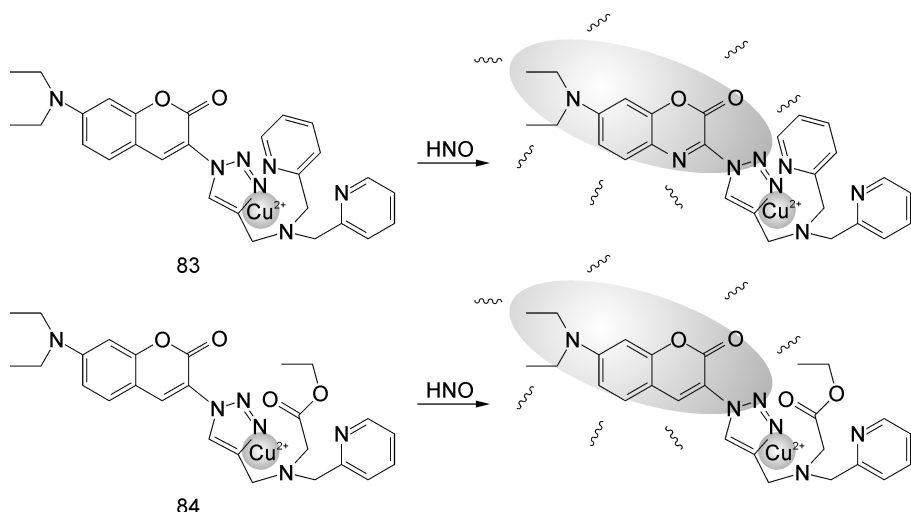


图 4-112 化合物 83 和化合物 84 对 HNO 的反应机理

4.16.13 基于其他反应机理检测 HNO

P. Toscano 等人设计出荧光探针 85,用于检测 HNO^[295],该探针分子由于与 N 原子连接的氧负离子具有荧光淬灭作用,因此分子本身荧光很弱。在 HNO 作用下,氧负离子结合一个质子成为羟基,使得探针分子的荧光得以恢复。但 NO 本身没有质子,所以不能与化合物 85 发生反应,因此此方法可以选择性地检测 HNO 而不受 NO 的干扰(图 4-113)。

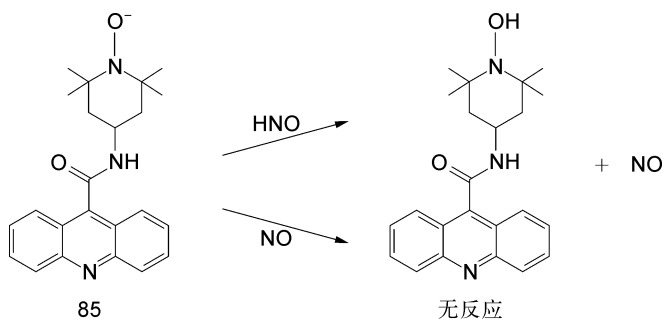


图 4-113 探针 85 对 HNO 的检测机理

Katrina M. Miranda 等人直接利用谷胱甘肽 (GSH) 检测 HNO ^[296]。GSH 与 HNO 反应后,一方面生成可特异性标记 HNO 的 GS(O)NH_2 ,另一方面可被氧化成 GSSG。另外,GSH 与 HNO 之间的反应很容易。重要的是,GSH 和 GS(O)NH_2 均包含氨基,因此可以设计成包含荧光团的化合物来检测 HNO ,从而提高反应的灵敏度。之后该课题组用荧光团萘-2,3-二甲醛 (NDA) 高灵敏度地检测 GSH 与 HNO 反应后剩余的 GSH,通过对比反应前后 GSH 的变化,从而实现了 HNO 的检测,为 HNO 检测方法的改进提供了很大的参考价值(图 4-114)。

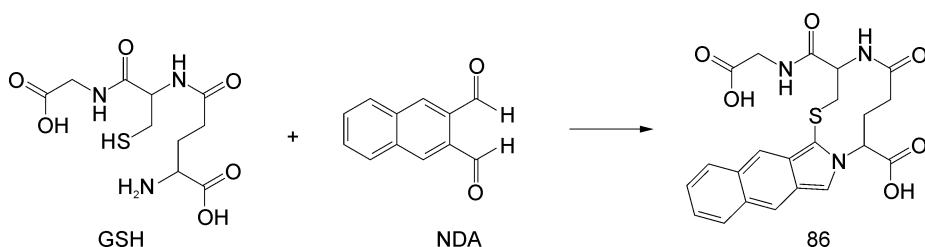


图 4-114 探针 86 对 HNO 的检测机理

4.17 —OH 检测基团

—OH 基团本身有很大的给电子能力,被夺去一个氢成为 —O^- 后,给电子能力就更大了。Bañuelos 组^[297]报道了 P2ArOH , P2ArOH 是多功能的系统,除了其大的“赝”Stokes 位移,终端—OH 酚基团的出现诱导荧光性能对周围环境的酸/碱性敏感。在碱介质中,酚—OH 基团被离子化,BODIPY 部分被激发后,光诱导电子转移过程被活化,淬灭 BODIPY 荧光发射, P2ArOH 染料可作为质子探针,同时伴随可逆的可见荧光的开关。

Saha 组^[298]合成了图 4-115 的化合物,Diphen—OH 在伯瑞坦-罗宾森缓冲溶液(Britton-Robinson buffer solution)中 25°C 时是高选择性荧光 pH 受体,当 pH 从 4.2 到 8.3 时,荧光有 250 倍的增加, K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 等生物相关的离子和 Cr^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 等离子不影响荧光强度。

Diphen 在伯瑞坦-罗宾森缓冲溶液中 25°C 时在 440 nm 处激发,荧光最大

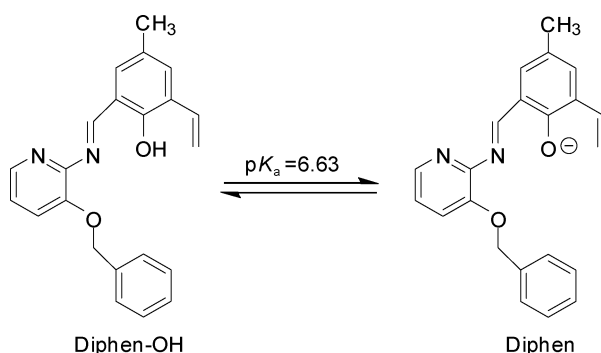


图 4-115 Diphen 和 Diphen-OH 的转换机理

强度在 528 nm 处,在低 pH 值范围内,随着 pH 的增加,荧光强度很快增加同时有红移,最后观察到最大峰在 533 nm 处,pH 在 4.0~9.0 范围内,这个增强是由于高 pH 时 Diphen(phenoxide)的形成。荧光强度变化的分析作为 pH 的函数,得到的 pK_a 是 6.63(± 0.04),这个数值表明 Diphen-OH 适合用于许多生物器官的研究。在 pH=6.63 时,其选择性很好。

在 pH=5.0~8.0 范围内,Diphen-OH 的吸收峰在 350 nm 处下降,430 nm 处上升,350 nm 处最大吸收归属于 Diphen-OH 的氢键酚形式,430 nm 处吸收为 Diphen 的酚盐形式,等吸收点在 380 nm 处,这些现象说明了从 Diphen-OH 到 Diphen 的转换。

Diphen 优势结构的 HOMO 密度和 Diphen-OH 相似,DFT 计算提供了 Diphen 相对于 Diphen-OH 的 LUMO 能级稳定性。Diphen-OH 去质子化的 Diphen 的稳定电子密度和结构刚性能够产生红移。

BODIPY 荧光 pH 探针的下列四个化合物从酚盐合成而来,这些化合物的酚盐都呈弱荧光,是因为从酚盐电子给体到激发态的稠环烃部分发生了电子转移,不同衍生物的 pK_a 值通过改变芳香取代基进行调节^[299](图 4-116)。

为了克服上述缺陷,2010 年报道了突破性设计的染料 BODIPY-OH,它有简单直接的酚/酚盐相互转换,波长可调,来源于生物发光的 Stokes 位移相对较大。研究表明普通的生物荧光中心,存在氧化荧光素的酚/酚盐平衡,在变化的荧光颜色上有重要作用。通过溶剂极性和在酚盐及抗衡阳离子之间相互作用的性质的变化,发射颜色能在宽波长范围内(541~640 nm)被调节,同时,BODIPY 在 3,5,8 位上有酚盐取代基。受这些现象启发,研究者设计合成了简单直接的酚/酚盐相互转换的 BODIPY-OH。所有研究表明,去质子化

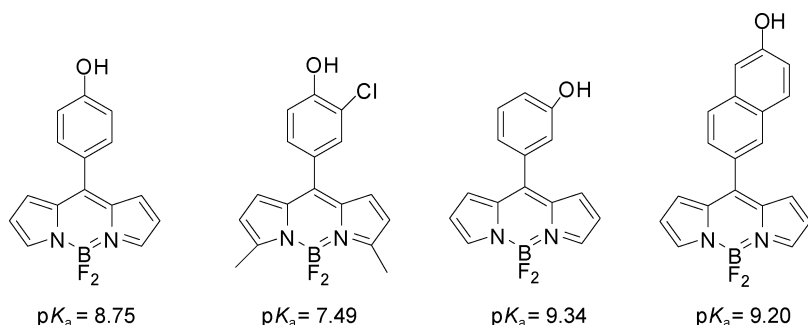


图 4-116 四个 BODIPY 分子结构式及其对应的 pK_a 值

决定荧光的原因是从酚盐到激发态 BODIPY 部分的电荷转移,可通过简单控制酚/酚盐发色团的相互转换而实现。而且,BODIPY-OH 和 BODIPY-O⁻ (去质子状态)在溶剂中有高量子产率的发射。此外,在有机碱的存在下,荧光光谱在溶剂中表现了相对大的 Stokes 位移,这个位移从激发态质子转移获得,即从(BODIPY-OH)* 转换成(BODIPY-O⁻)*,随后以离子形式发射。

在所设计的荧光探针分子中,以 BODIPY 作为信号荧光团, Si-O 键(TBDPS)作为识别位点,巧妙地合成了基于光致电子转移原理(PET)的探针分子 BODIPY-OH,由 BODIPY-OH 与 TBDPS 反应形成 BODIPY-OSi 作为检测氟离子的探针,BODIPY-OSi 紫外吸收在 545 nm 处,荧光在 573 nm 处,当加入氟离子后发生去保护反应,TBDPS 脱落,紫外移到 644 nm 处,荧光移到 676 nm 处(图 4-117)。

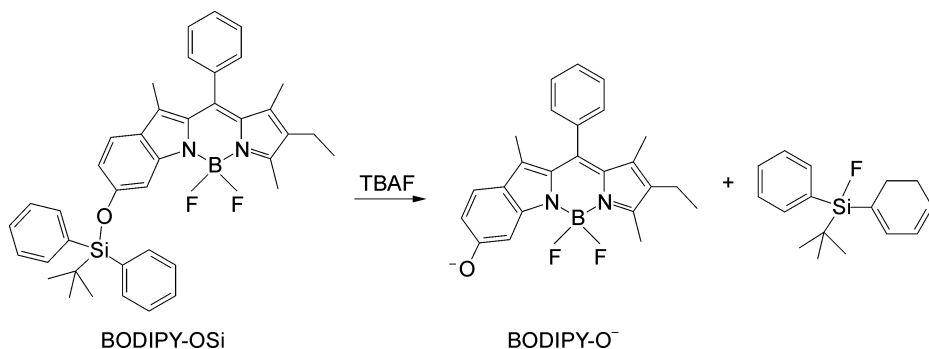


图 4-117 F⁻ 对 BODIPY-OSi 的作用机理

荧光比率传感器 50 是符合 ICT 机理的两亲性探针,能够在缓冲水溶液中和生物体内比例型检测氟离子(图 3-52)。

DCPOSi 是在二吡喃腈化合物基础上合成的,有荧光增强比例响应、近红外荧光、对氟离子高选择性等优点。引入苯环的 DCPOSi 系列染料在氟离子作用下的发射波长红移了约 140 nm,DCPO⁻达到了 700 nm,落入近红外光区域。符合分子内电荷转移(ICT)机理(图 4-118)^[300]。

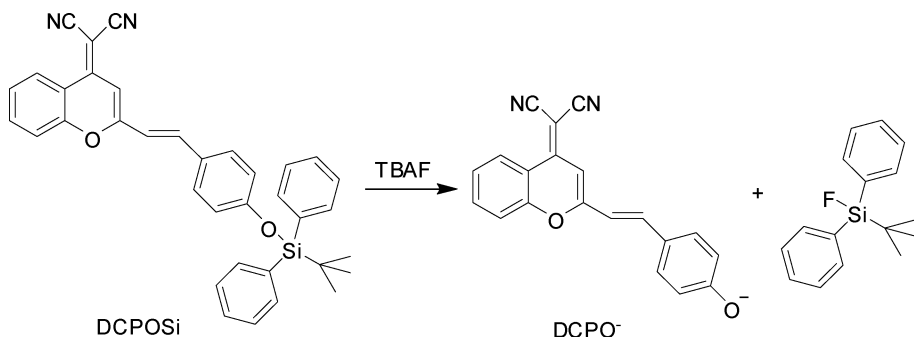


图 4-118 DCPOSi 的分子结构式和它被 F⁻ 激发释放 DCPO⁻ 的反应机理

图 4-119 中是三个 BODIPY 衍生物氟离子探针 64、65^[151] 和 66^[301]。

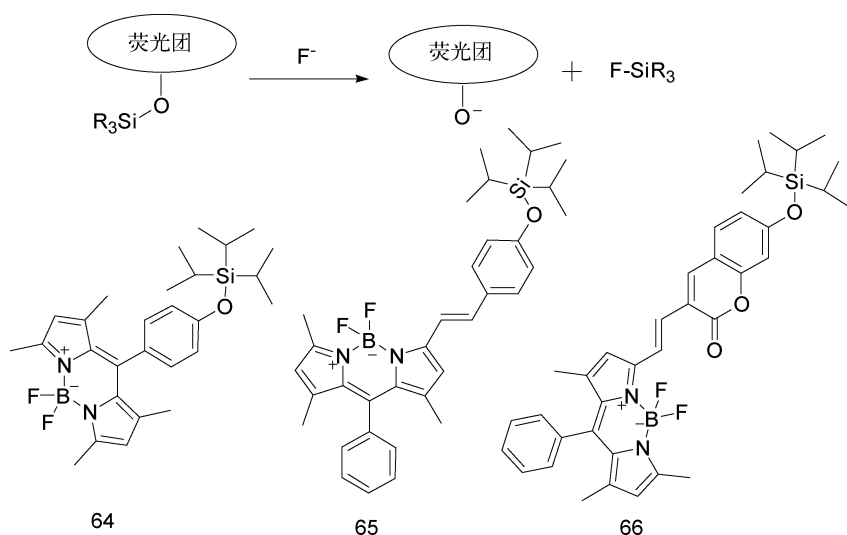


图 4-119 化合物 64~66 的分子结构式及其传感机理

在氟离子与硅氧键的反应基础上,研究人员进一步研究了 F⁻ 触发 Si 与其他元素形成的价键的断裂反应,其中之一就是 Si-C 键的断裂。人们发现: Si-C 键比 Si-O 键更容易断裂。图 4-120 展示的就是这一类氟离子传感器的结构,包括: BODIPY 衍生物 67^[302] 和 68^[303],茈萘衍生物 69^[304] 和萘酰亚胺衍

生物 70^[305]。基于 Si—C 键断裂的探针常常导致荧光发射峰发生蓝移,从而构建出比率型荧光探针。例如,将 F⁻ 加入化合物 67 的丙酮溶液中,可以看到在 571 nm 处的荧光强度下降,而在 554 nm 处的荧光强度增强,其发射峰蓝移了 17 nm。

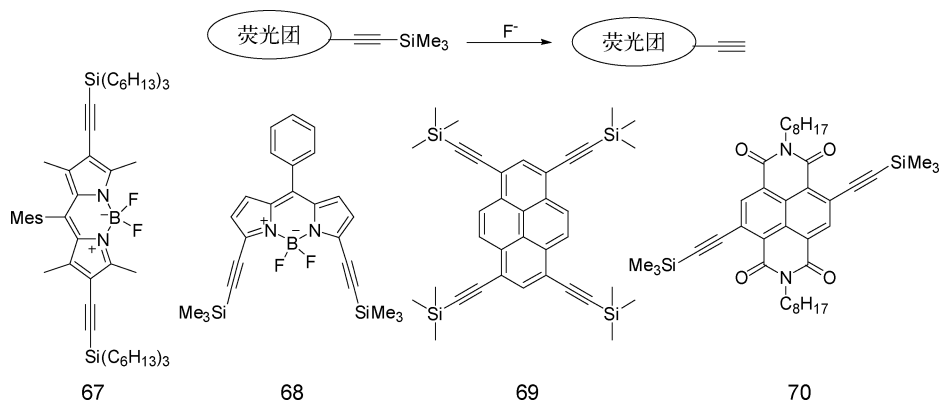


图 4-120 化合物 67~70 的分子结构式及传感机理

除了上面介绍的两类氟离子化学传感器的反应机理之外,还有氟离子的亲核加成反应机理、氟离子诱导的分子内成环反应机理、氟离子激发 Si—O 键断裂后再成环的机理以及基于有机硼化物的氟离子荧光传感器。

第 5 章

荧光分子传感器

5.1 荧光分子传感器

荧光分子探针是众多分子器件中的一种。分子识别是荧光分子探针技术应用之一,荧光分子探针的识别部位结合目标分子后,将分子结构中的自身信息转换为可观测的荧光信号,随后通过解读荧光信号给出所检测目标分子的信息。荧光分子探针技术具有高灵敏度和低检测限的优点,能达到单分子水平上的检测和原位检测,能准确给出目标分子信息,可用于医学上碱基和蛋白质的检测,所以在生物学、医学、环境学等许多领域有广泛应用。目前对荧光分子探针技术的探索在不断进行中^[9]。

识别过程通常可理解为探针分子与目标分子发生了某种联系,探针分子结构发生不可逆的化学变化导致分子间共价键断裂或者探针分子与目标分子以共价键相互结合,导致发射荧光,以达到检测分析的目的。

5.1.1 探针的分子结构对传感的影响

紫外吸收光谱、荧光发射波长位置和荧光量子效率等受荧光探针分子的分子结构所影响,例如探针分子的芳基部分被限制旋转将导致吸收和荧光在长波长处更强烈,量子产率更高^[48]。

Kolemen 组合成图 3-7 中系列 BODIPY 染料 10 和染料 11,在 meso 位上连接了电子接受/束缚基。化合物 12 的电荷转移的效率明显要低,是由于束缚基团在不同的位置上,强迫电子流动到一个交替的位置,该实验证明激发时电荷重定位在 meso 位碳原子上是有意义的。

Qin 组^[306]设计了苯胺在 BODIPY 核 3-位取代,这个不对称取代基破坏了 BODIPY 荧光团的对称性,对 BODIPY 染料的荧光有很大的影响,将苯乙炔基引入到 BODIPY 中扩展了 π -离域系统,能够有极高的荧光量子数和荧光光谱延伸到近红外光谱范围。Kaloudi-Chantzea 组^[307]的 BODIPY 染料两个 sp^3 杂化的氟原子被线性给体 4-乙炔基吡啶取代,形成刚性的高对称(109.5°)化合物,荧光团是垂直对齐着乙炔基吡啶给体形成的平面,这个结构和 90° 的有机金属铂单元反应,在溶液中形成强荧光菱形空穴,结构中 109° 的角能成为富有变化的稳定的 3D 纳米笼结构,这个纳米笼在壳外(例如立方八面体、金刚烷、三角双锥体等)有强烈的荧光。

因为容易分解和转化,不对称硼化合物很少,合成的产率很低。Haefele 组报道了图 3-8 中荧光探针的氟原子被各种功能取代基取代,连接上选择性识别基团后,该探针在手性环境中能够用作荧光手性识别。

5.1.2 探针的氧化还原性对传感的应用

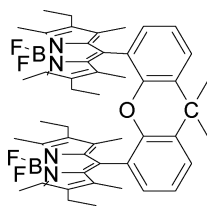


图 5-1
BD₃ 的分子结构

荧光分子探针的氧化还原电势对探针分子的应用很重要,Benniston 组^[308]报道了图 5-1 的 BD₃ 分子中 F—F 的相互作用阻止了相邻 BODIPY 单元 π -轨道的面-面重叠。两个 BODIPY 单元之间电子的相互作用扰乱了循环伏安曲线,使因电荷离域而增加能级的二聚体的电子氧化半波势连续下降。二聚体的还原态也有相似的效果。

Sartin 组^[309]报道了化合物 B8amide,认为 741 nm 处的第二强峰是电极上薄膜里的三线态发射,随着连续电势循环,第二荧光峰的增长组成长波长的光致化学荧光。Lai 组^[310]的 BODIPY 化合物的 2、6、8 位缺少推电子取代基而引起阳离子和阴离子自由基的稳定性下降,导致了不可逆的电化学氧化和还原,使 ECL(电致化学发光)效率下降。

图 5-2 中的 BODIPY 对称染料 17 和不对称染料 18 由 Qin 组^[311]提出,两种染料的氧化还原电势不同,染料 17 比染料 18 有更低的氧化势,这可能是染料 17 的两个推电子苯胺基增加了共轭链上的电子云密度,因此促进了氧化,而不对称染料 18 上的氯原子是拉电子基团。

Krumova 组^[312]的 BODIPY 染料有大范围的电势和多样化的电化学性能。新染料能亲电和亲核偶联,C2 和 C6 位的拉电子基团和推电子基团取代

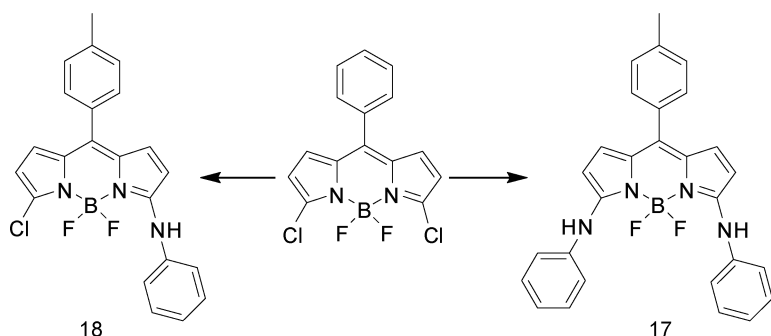


图 5-2 BODIPY 染料 17 和染料 18 的结构式

能调节氧化和还原电势, meso-乙酰羟甲基和 meso-羟甲基 BODIPY 染料分别表明了可逆和不可逆的电化学还原。

5.1.3 探针的聚合状态对传感的应用

Vu 组^[313]报道了图 5-3 的 BODIPY 染料, 荧光团被制作在薄膜中, 化合物 19 有 H-聚集态的行为和差的荧光性能, 化合物 20~22 在吸收和发射上有红移, 它们的荧光带比在溶液中的狭窄, 这是由荧光团聚集态从高能到低能的能量转移引起的。随着链的长度增加, 荧光量子产率增加, 表明固态荧光的 BODIPY 上取代基的数量和尺寸的重要性。报道的 BODIPY 染料可以用于固态光物理器件, 如 OLED 的发展。

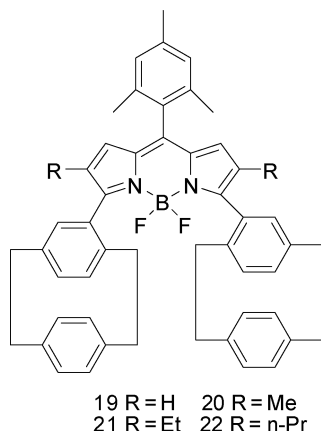


图 5-3 BODIPY 染料 19~22 的分子结构式

Camerel 组^[314]实验表明胶束的构成源于氢键的结合和荧光团的相互作用, 但是荧光团的聚集是控制胶束结构的主要驱动力, 通过聚集的程度可以控制荧光性能。Frein 组^[315]的 BODIPY 染料通过酰胺键被接枝到聚芳基酯基树枝状氨基二苯基中间单元, 聚合物在固体和溶液中都稳定, 加热到 200℃ 时荧光没有下降。第一代聚合物表现出液晶相, 第二和第三代聚合物表现出近晶 A 相, 染料在中间态仍然是有荧光的。F-BODIPY 的聚集态在第一代聚合物中明显, 第二代、第三代聚合物有利于染料分散, 阻止了聚集态的构成。J-聚集态有利于 700 nm 以上发射光的红移, F-BODIPY 的聚集趋势能通过聚合物代数的选

择来调节(图 5-4)。

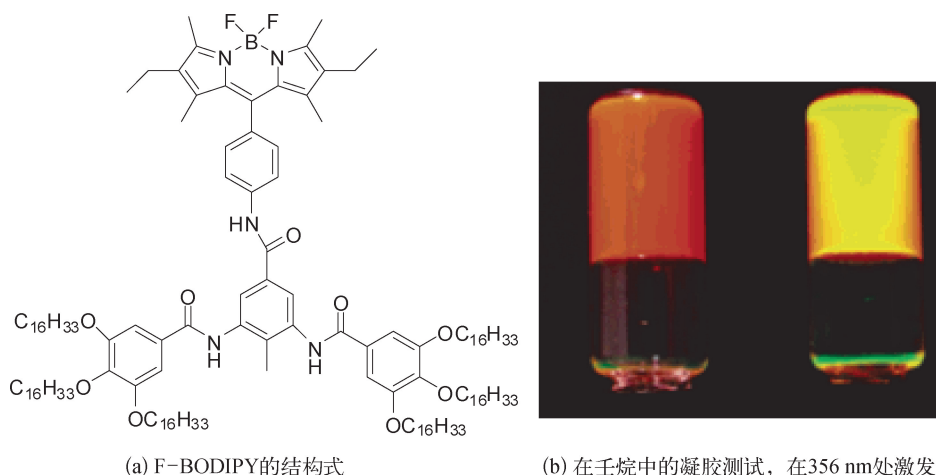


图 5-4 F-BODIPY 的分子式及凝胶测试中的聚集趋势

Camerel 组^[316]描述了图 5-4 中高荧光强度的介晶染料和凝胶,在固态时展现了可逆的相转移,在 28℃ 的跃迁过程中从中间相到晶体态,荧光从黄绿色变为橘红色,聚集态的构成导致了荧光的红移,在 F-BODIPY 骨架上通过荧光发射观察到热致液晶的纹理。

5.1.4 荧光分子探针的光致变色对分子传感的研究

Tomasulo 组^[317]的 BODIPY 荧光团能共轭连接螺吡喃光致变色构筑光开关荧光器件,光致变色结构以单指数热力学恢复到原来结构,寿命为 2.7×10^2 s,初始发射强度完全恢复。紫外线照射能够使发射强度在高低值之间重复改变。荧光团-光致变色染料有轻微的疲劳抵抗,5 次开关循环以后,发射强度下降了 24%。

Golovkova 组^[318]设计荧光激活的思路是建立在 BODIPY 染料的发射和二噻吩乙烯光致变色部分关环异构体吸收的重叠上,重叠后发生能量转移,导致强烈的荧光淬灭。

图 5-5 中的 3 个化合物在己烷中在 503 nm 处为 BODIPY 染料特征吸收峰,BODIPY 共价连接光致变色染料二噻吩乙烯后,化合物的吸收峰没有位移,这表明 I-BODIPY 染料连接二噻吩乙烯部分后对光学性能的影响是微不足道的。I-BODIPY 染料和光致变色二噻吩乙烯共轭连接,构成新的光开

关,开环结构时有高的发射,关环结构时荧光淬灭。从染料到二噻吩乙烯的关环形式的分子内能量转移,被认为是光致变色反应以后的荧光淬灭的机理。荧光的激活是可逆的,能被重复多次,没有明显的荧光强度下降。

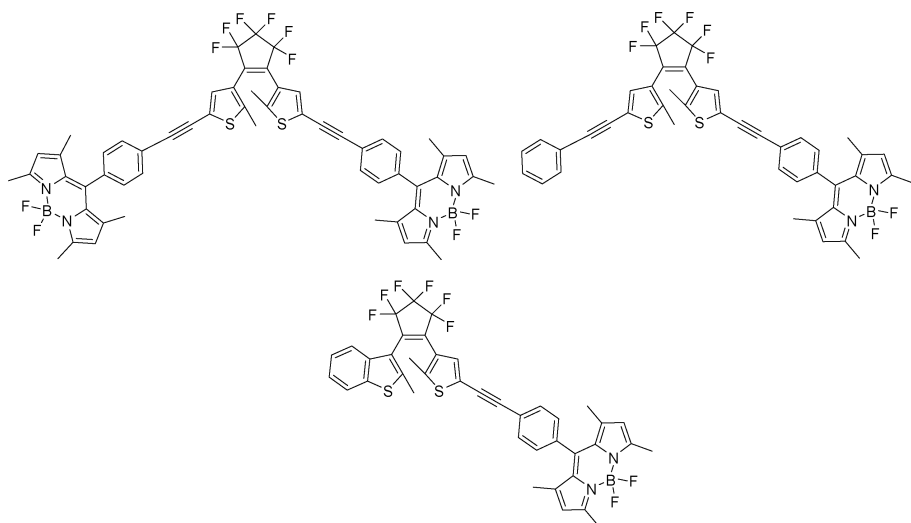


图 5-5 BODIPY 染料的分子结构

5.1.5 探针的光电转换对传感的研究

研究表明,荧光分子探针的吸收在可见光谱范围内覆盖了宽的区域,在给体发射和受体吸收之间有好的光谱重叠,从给体单元(在紫外光处激发)到受体单元(在可见光处发射)的分子内能量转移过程,能在光伏太阳能电池用作天线系统。

Mikroyannidis 组^[319]研究了图 5-6 中的对称二氮吡咯 A 和相应的 BF_2 氮吡咯络合物 B,化合物 B 能用于固体异质结太阳能电池,但化合物 B 只在非质子溶剂中稳定。化合物 B 的薄膜吸收光谱是宽的,并且表现出比化合物 A

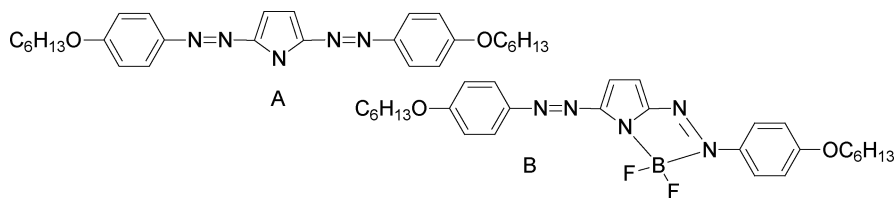


图 5-6 化合物 A 和化合物 B 的结构式

(1.54 eV)更低的带宽(1.49 eV)。化合物 A 和化合物 B 的 HOMO 能级和 LUMO 能级适合于固体异质结光敏层。

5.2 荧光分子探针应用研究

5.2.1 阴离子传感器

阴离子在各领域中有重要作用,阴离子配位化学已逐渐成为新的研究方向。阴离子底物与阳离子底物相比有不同的结构形态:线型(OCN^- 、 N_3^- 等),球型(卤化物),平面型($\text{R}-\text{CO}_2^-$ 、 NO_3^- 等),四面体型(PO_4^{2-} 、 ClO_4^- 、 SO_4^{2-} 等),八面体型 $[\text{M}(\text{CN})_6]^{n-}$ 。另外,阴离子的几何尺寸要比阳离子的大。

例如图 3-25 中, CN^- 引起氰根离子探针双重颜色和荧光变化。在 490 nm 的等吸收点说明化合物 Cou 对 CN^- 的反应产生了新的物种。在 484 nm 处荧光增加,而其他钾盐离子没有这个变化。产物 Cou-CN 不可逆转,加入 Cu^{2+} 没有影响。

Fu 组^[302]报道了如图 5-7 所示的氟离子 BODIPY 比色计探针,它能在 5 min 内达到平衡,能在接近和低于 USEPA 的饮用水标准下检测氟离子浓度。

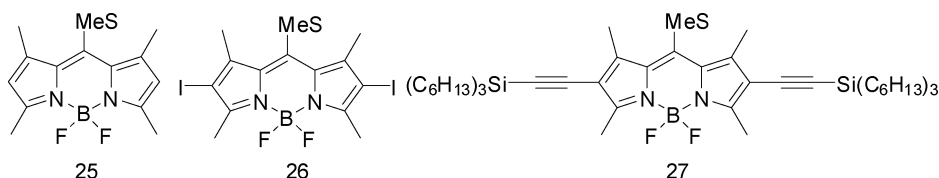


图 5-7 BODIPY 染料 25~27 的结构式

BODIPY 染料 25、染料 26、染料 27 的吸收波长分别是 500 nm、530 nm、555 nm,在染料 26 中碘原子的拉电子性能和染料 27 中延伸的 π -共轭减少了 HOMO-LUMO 能带,荧光分别在 510 nm、546 nm、571 nm,染料 26 的低量子产率反映了碘原子增加旋轨耦合的重原子效应,染料 27 加入氟离子后有明显变化,吸收在 555 nm 处下降,在 538 nm 处上升,荧光在 571 nm 处下降,在 554 nm 处上升,荧光颜色由橘色变成绿色。

图 5-8 中的化合物 28 由 Huh 组^[320]报道,化合物 28 在 THF 中有两个

主要的吸收峰,在 330 nm 和 501 nm,分别是硼烷中的 $\pi - p\pi(B)$ 跃迁和 BODIPY 部分的 $\pi - \pi^*$ 跃迁。

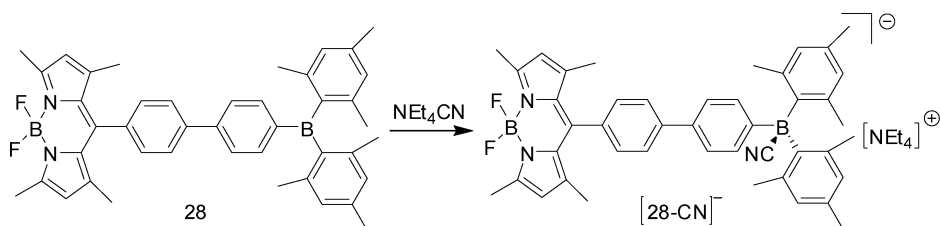


图 5-8 BODIPY 衍生物 28 和 $[28-CN]^-$ 的结构式及反应原理

化合物 28 中两个独立的吸收特征,表明化合物 28 是包含分子内能量转移(给体)-(受体)的分子,硼烷作为给体和 BODIPY 作为受体偶联产生新的硼基氰根离子受体 $[28-CN]^-$ 。

1. 阴离子不同设计原则

阴离子在化学和生物学领域内扮演了一个重要角色,人们设计了很多阴离子非生物受体。

阴离子传感器设计的原则是至少两个基团的偶联,每一个基团都有精确的功能:络合基和信号子单元。前者对某种阴离子有配位的功能,而后者在阴离子配位后改变光谱特性(颜色和荧光)。络合基和信号单元能被共价联结(络合基-信号子单元法)或者不能(取代法)。这个设计原则建立在阴离子配位的基础上,因此阴离子的相互作用及颜色和荧光的变化原则上是可逆的。事实上,配位是典型的可逆化学反应,配位方式根据阴离子浓度决定和改变。除这个体系之外,使用荧光和颜色的阴离子信号也能通过不可逆反应观察到。

(1) 络合基-信号子单元法

许多化学传感器是按照信号单元和络合基的共价联结的方法设计的,如图 5-9^[321]所示。

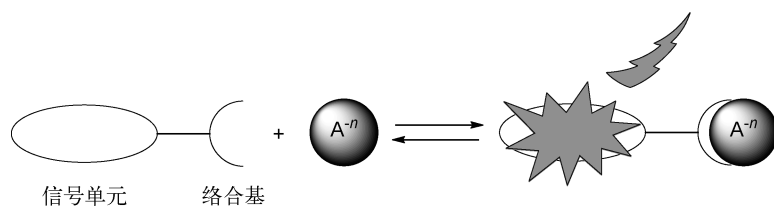


图 5-9 阴离子探针作用机理

这个方法在阴离子化学传感器的发展过程中被广泛使用,在将来的研究中是一个基本方法。信号分子单元的性能被改变的方法下的络合阴离子的配位基在颜色或者荧光上发生了各种变化。

(2) 阴离子络合基

当为某种阴离子选择接受器的时候,配位阴离子的形状、几何结构、随 pH 值变化的电荷、疏水性需被考虑。一般来说,无机受体和生物受体对阴离子的作用是相同的。基本上分为静电相互作用、氢键构成、金属离子相互作用。

(3) 染料作为信号子单元

通过吸收在可见范围内(400~700 nm)的电磁辐射,有机化合物变得有颜色,化学结构和有机染料颜色之间的关系被广泛研究。许多染料包含共轭结构,HOMO 和 LUMO 之间的能量带对某种特定染料的颜色是有决定作用的。许多共轭系统在可见光范围内,能量上 HOMO 和 LUMO 之间有差别,已经明确的是,共轭系统越大,基态和激发态之间的差别越小,结果是更少能量的吸收带会有更多的红移。除了和共轭体系长度相关的基本共轭骨架,还有通过对共轭体系连接给电子基团或受电子基团从而修饰吸收波长的化学方法。在一个特定分子中当吸电子基团和给电子基团通过一个共轭系统连接时,能观察到一个 CT 带。这符合一个 CT 转换,在光激发下,有一个重要的电子电荷分数从给体到受体的转移。阴离子对给体和受体基团的相互作用能够导致颜色上的变化。比如,一个阴离子和一个给体基团的相互作用会使给体基团更多地将电子给共轭体系,提高共轭,诱导红移。大多数阴离子颜色化学传感器基于络合基-信号子单元方法,含有阴离子络合基受体基团,例如硝基苯、蒽醌、偶氮染料等,可以观察到在阴离子配位上往长波方向的移动。

在许多染料上一个重要的效果是溶剂化显色。一个有溶剂化显色的染料在溶液中颜色改变是由于改变溶剂的极性。例如,这个溶剂化显色被扩展,用作基态和激发态极性的指示剂。对于传感的目的,这个效果也有一些重要性,它可用来选择某种设计探针的初始和最终颜色。

(4) 络合基-信号子单元方法的后续

在荧光化学传感器方面,阴离子显色化学传感器最广泛应用的方法是络合基-信号子单元法。在这方面,配位基的至少一个原子是共轭系统的一部分,作为信号单元。在许多荧光化学传感器中,在络合基和信号单元之间有一个间隔区 spacer(在子单元之间阻碍任何电子离域),通常情况下,在发色化学

传感器中,信号和络合基是一个整体(缺少间隔区 spacer)。阴离子配位上,颜色变化的产生是由于 HOMO 和 LUMO 轨道之间相关能量的变化。

2. 氟离子探针

氟离子在有机溶剂中是强碱,被认为是容易传感的目标^[37,322]。在非竞争性的介质中,通过改变酸碱平衡和强的氢键作用,能产生许多不同的荧光信号。然而,在水溶液中氟离子传感或产生信号是非常困难的,没有分子系统在水溶液中能可逆地感知氟阴离子。每个系统都有复杂性,例如需要大的荧光浓度、信号强度,或者受化合物平衡影响的三元系统。

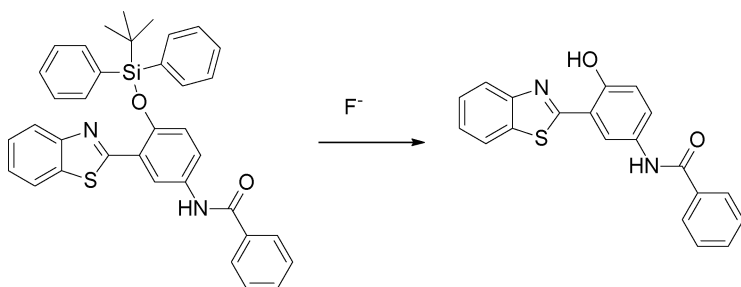
迄今为止,对氟离子的特定识别及解读识别结果是研究的关键。目前已有文献报道,荧光分子探针检测饮用水及环境中氟离子。文献中提到的检测原理主要是基于氟离子与基团的氢原子之间的氢键作用或者与硼、硅原子之间专一性的亲合作用。这种专一性识别能使探针分子光谱发生明显变化,从而可以判断出检测结果。图 4-4 介绍了化合物 46 和化合物 47 作为氟离子响应分子,建立在乙醇和酚基础上的脱硅保护基团的方法^[151]。

Jiao 组^[323]发展了 3 位卤代苯融合的 BODIPY4 平台,这个平台在 Sonogashira 偶联和亲核取代的反应中的应用,产生了一系列的不对称的苯融合的 BODIPY 染料,允许 BODIPY 单元有效地连接到各种取代基上,大多数结果表明 BODIPY 染料有长波长吸收和荧光发射。

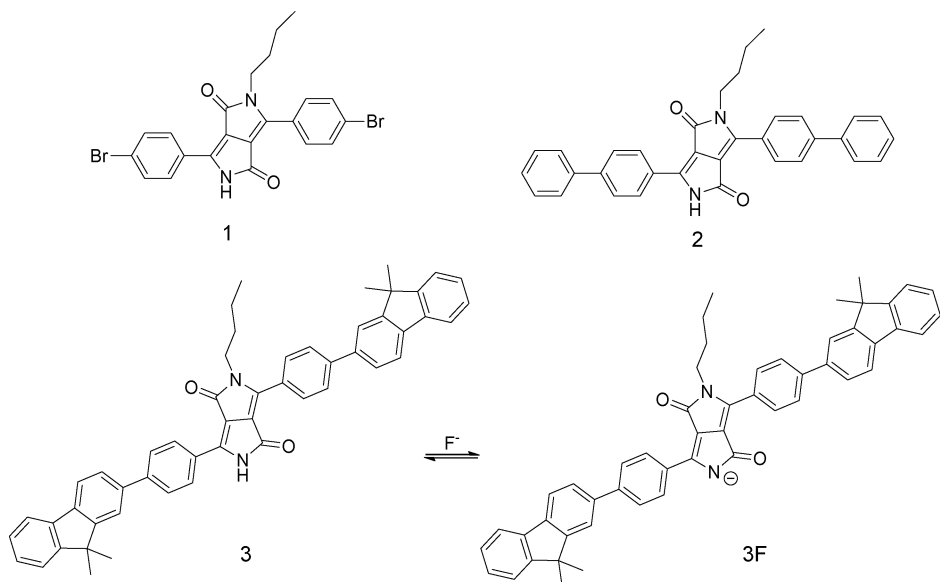
Chen 组报道了图 4-63 的化合物 3a,在 550 nm 处有明显的荧光增强,符合 PCT 过程,加入其他阴离子没有变化,所以化合物 3a 可以作为氟离子探针。

文献报道,含吡咯基团的氟离子分子探针的机制是吡咯基团中的活泼氢与氟离子形成氢键。但是,氢键的强弱及选择性受溶剂极性的影响。Kim 等人^[228]将香豆素类衍生物制成半导体聚合物来检测氟离子。但是用于在细胞内检测氟离子还是有相当的难度,因为聚合物探针对细胞膜渗透性比较差。有关细胞内氟离子检测荧光成像的小分子荧光探针还没有报道。

Guoqing Yang 等^[152]学者的文献报道了一种基于 ICT 效应的比率型荧光探针,利用化学反应检测氟离子,加入氟离子使硅氧键断键,生成供电子的酚羟基,溶液在紫外灯下由蓝色变为黄色,实现发射光谱的红移 142 nm,纯水中的检测极限在 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 左右,完全适用于饮用水中氟离子的检测(图 5-10)。

图 5-10 化学反应型荧光探针对于 F^- 的检测机理

三种新的二酮吡咯并吡咯(DPP)化合物被证明是比色和比率型红色荧光传感器,用于识别氟化物阴离子,具有高灵敏度和选择性。识别机制为 DPP 部分的内酰胺 N 位置上的氢原子与氟阴离子之间的分子间质子转移^[324](图 5-11)。

图 5-11 化学反应型荧光探针 1~3 的分子结构式及化合物 3 对于 F^- 的检测机理

研究者已经开发了荧光探针 2 和探针 3 用于 F^- (CH_3CN) 的选择性和比率估计。在咪唑鎓氮 3 中存在亲脂性十二烷基附加物,该物质已成功地选择性测定质子 ($CHCl_3 - MeOH$, 体积比 1 : 1) 溶剂中的 AcO^- 离子^[325](图 5-12)。

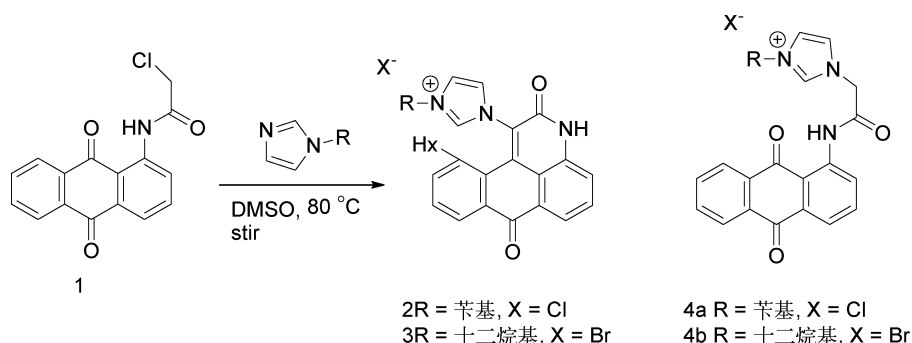
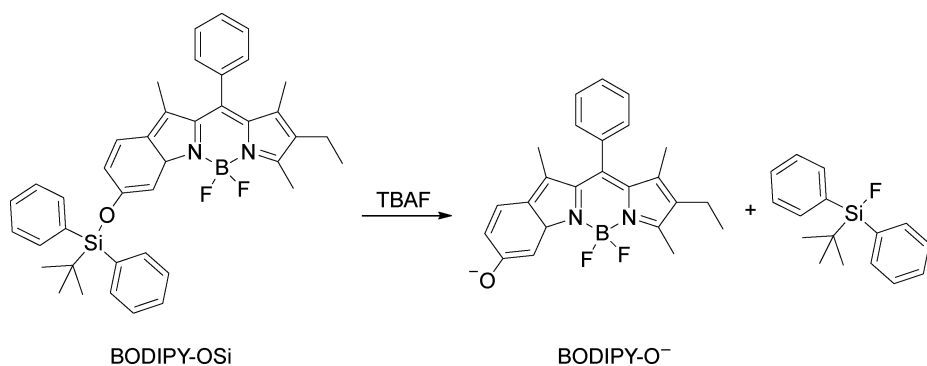


图 5-12 化学反应型荧光探针 2 和探针 3 的合成机理

阴离子的传感问题非常复杂,因为阴离子的尺寸、形状、电荷分布等是不同的,且在极性或非极性溶剂中有强的溶解性。新的 BODIPY 荧光染料能用于检测阴离子,图 5-13 中所设计的荧光探针分子以 BODIPY-OH 与 TBDPS 反应形成 BODIPY-OSi 作为检测氟离子的作用机理,BODIPY-OH 基于光致电子转移原理,识别位点为 Si-O 键(TBDPS),BODIPY 作为信号荧光团,BODIPY-OSi 紫外吸收在 545 nm 处,荧光在 573 nm 处,当加入氟离子后发生去保护反应,TBDPS 脱落形成 BODIPY-O⁻,紫外吸收在 644 nm 处,荧光在 676 nm 处。

图 5-13 F⁻对 BODIPY-OSi 的作用机理

研究者设计合成一种新结构的化合物 DCM 基染料,尝试从不同的角度和作用机理来探讨检测氟离子的方法。大量的有吸收或荧光变化的氟离子荧光化学探针被构造^[326],在可见范围内有吸收和发射波长。在 650~900 nm 波长范围的近红外探针得到了相当的注意是因为光损伤少,荧光背景小,光散

射少。

3. 其他类型阴离子荧光分子传感器

(1) CN^- 探针

氰化物作为一种危险的化学物质,能够对哺乳动物等产生致命的毒性。

通过形成分子内氢键,醛基上的羰基氧可以被邻位的酚羟基所活化。羰基被活化后能够与氰离子发生亲核加成反应,氰离子攻击醛基上活化了的碳氧双键,导致酚羟基上产生一个烷氧基负离子,产生的烷氧基负离子与酚羟基依靠分子内氢键形式相互结合,进行质子转移后形成氰醇化合物,这一过程符合“激发态质子转移(ESIPT)”机制,能观察到荧光光谱的明显变化。有大量文献曾经报道过基于这一原理来设计氰离子探针。

(2) S^{2-} 探针

二价硫离子常常作为工业生产中的副产物出现,如果与环境中的质子结合,将大大增加它的毒性和腐蚀性。在所有文献报道方法中,化学反应型荧光探针对于 S^{2-} 的检测越来越受到广泛关注。XiaoFeng Yang 课题组设计并合成了一种利用 S^{2-} 亲核性进行化学反应的荧光探针(图 4-6)。

(3) 生物硫醇探针

细胞内硫醇在生理过程中扮演着许多重要的作用,生物样品中对含巯基的分子的选择性检测和监测是很重要的。图 3-75 中的半胱氨酸是生物体中非常重要的三种生物巯基小分子中的一种,是一种天然产生的氨基酸。迄今为止,已获得了多种选择性硫醇荧光化学传感器。如图 3-76 所示,化学传感器 58 对生物硫醇具有高选择性和灵敏度,可利用硫醇的亲核进攻诱导荧光素螺内酰胺开环。

(4) 亚硫酸盐探针

亚硫酸盐是一些食物和人体的共同的物质。亚硫酸盐也用作抗微生物添加剂,广泛应用于食品、药品、涂料、生物样品和化妆品中,以抑制微生物的生长或不良的化学变化。研究人员试图设计和使用这类具有高灵敏度、快速响应和多波长输出信号的荧光传感器来检测食品添加剂。

研究者以三苯胺为核心,设计合成了一个新的具有聚集诱导发光效应的比例型同步荧光探针 DPTPA2。图 5-14 是对四种不同种类物质进行的选择性研究,采用同步荧光光谱进行测试,结果表明 DPTPA2 对亚硫酸盐具有高度的选择性。

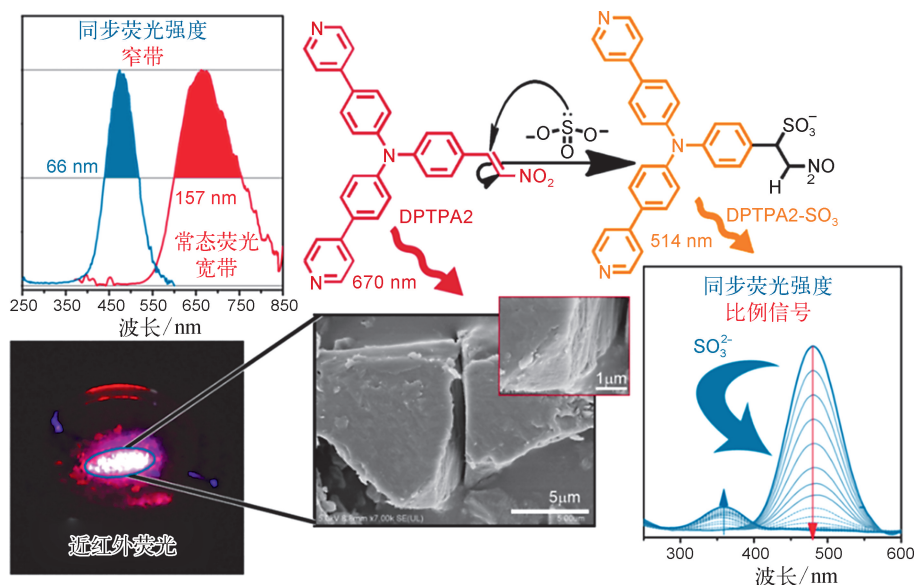


图 5-14 DPTPA2 及其亚硫酸盐的结构

(5) 苯硫酚荧光探针

苯硫酚是一种毒性高的环境污染物质,在毒理实验中发现,低剂量的液态或者气态的苯硫酚都会对中枢神经系统及其他相关系统造成严重危害,如呼吸困难、四肢无力、手脚麻痹、眩晕,更严重的甚至会死亡。另一方面,苯硫酚在当今工业生产中占据着相当重要的角色,苯硫酚在一定程度上被视为一种既稀罕又昂贵的化工原料。但苯硫酚的毒性是不可忽略的,检测环境中苯硫酚的简单实用手段至关重要,进一步可对环境和生物细胞内苯硫酚进行定性和定量的识别检测。

基于分子内电荷转移机制(ICT)的苯硫酚荧光探针 12,在加入苯硫酚后溶液的荧光强度有大于 50 倍的增强,可以用于区分苯硫酚和脂肪族硫醇,具有高度选择性和高灵敏度^[154]。

5.2.2 阳离子传感器

通常,金属离子荧光传感器的制造可以通过将荧光团部分与离子载体部分组合来实现,其中离子载体部分可以选择性地结合金属离子以形成金属离子-荧光团复合物,并随后诱导荧光强度的波动。到目前为止,各种材料,如有机荧光染料^[327]、金纳米簇^[328]、金属有机骨架(MOFs)^[329]、还原氧化石墨烯

(rGO)^[330]等已被用作金属离子监测的荧光传感器。

1. 分子内环化硫脲衍生物的鸟苷酸化

胍是有机合成中有用的碱催化剂^[331]。作为与许多生物相关的化合物模块,胍的合成受到了重视。由此氨的鸟苷酸化的许多方法被研究,包括通过运用 Mukaiyama 试剂的反应调节氨和硫脲衍生物,以及使用钛催化碳化二亚胺的氢胺化反应。另外, Hg(II) 能催化硫脲分子间转化为胍,可以有效激发分子内和分子间鸟苷酸化。但是这个潜在的荧光底物反应很少被注意到,因为最多的硫脲衍生物有与胍类化合物同样的颜色或荧光。第一个报道基于 Hg(II) 激发分子间环化鸟苷酸化的荧光化学比例计被报道(图 3-21)。

2. 各种阳离子探针

金属离子的响应性、激发范围、发射波长和量子产率^[170,332]等参数对 Hg(II) 化学比例计比较重要,弱的水溶性和灵敏性限制了在生物上的应用。解决这类问题的相关工作一直在进行, Nile Blue(II) 的新衍生物利用化学比例性能在 100% 水溶液中检测 Hg(II)^[179]。选择性方面,室温下 pH 值在 2~9 范围内,探针 11 对与硫元素有响应的 Cu(II) 和 Ag(I) 的荧光没有变化,而对 Hg(II) 有高效的比色和荧光比率检测效果,因此选择性非常好。

生物体的各种特征和表现来源于由无机离子、核苷酸及氨基酸等组成的小分子和生物功能大分子。生物体内的某些蛋白质和酶就是含金属离子的生物功能大分子,铜蓝蛋白含 Cu,钙调蛋白含 Ca,羧肽酶含 Zn 等,金属离子的作用非常重要,大多数酶的活性通过金属离子来表现,生物分子的结构和功能可通过金属离子来研究。

快速有效地检测金属离子的含量是必要的,荧光分子探针检测金属离子的研究应运而生, Qi 组^[333]描述了 BODIPY 衍生物 29 和 30 分别对 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 作为“关”-“开”荧光化学传感器和化学计量型荧光探针(图 5-15)。

图 5-15 中,化合物 29 中加入 Pb²⁺ 后, PET 过程被禁阻出现大的 CHEF, 对 Zn²⁺ 和 Cu²⁺ 只有小的 CHEF。化合物 30 通过选择性的乙酰基水解有效识别 Cu²⁺, 加入 5 倍的 Cu²⁺ 后, 化合物 30 有最大荧光发射强度, 随着 Cu²⁺ 浓度的增加, 荧光强度逐渐下降, 并红移约 9 nm。

Filatov 组报道了系列芳香 π -扩展二吡咯分子 BDPs 和 NDPs(图 4-64), 加入金属盐后, 它们的荧光立刻提高, 可通过改变金属配位的方式激活荧光。

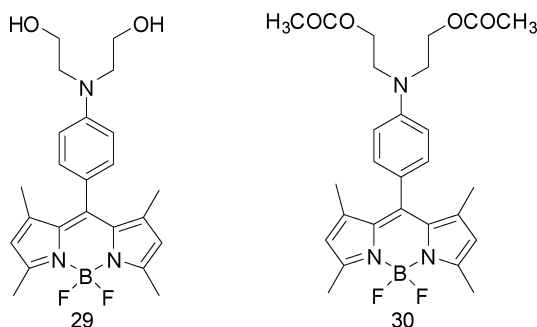


图 5-15 BODIPY 衍生物 29 和 30 的分子结构式

图 4-47 中, BODIPY 染料探针的二硫氮杂冠配体对 Hg^{2+} 的有很好的选择性, 而不同受体二甲基吡啶酰胺配体对 Zn^{2+} 有高识别能力。

研究发现, 因为顺磁性的 Cu^{2+} 灵敏度不高, 所以早期文献中有关 Cu^{2+} 探针大多数是荧光淬灭的。也有报道荧光增强型的, 但是由于容易受 Fe^{3+} 和 Hg^{2+} 的干扰, 选择性不好。与传统的络合型 Cu^{2+} 探针相比, 反应型的 Cu^{2+} 探针开始走进研究者的视野, 但是大多数 Cu^{2+} 探针激发的反应都有限制: 只在纯溶剂中或含水的比例不能超过 20%; 需要高温或酸或碱条件; 容易受干扰, 识别能力差。

Wang 组报道了图 4-60 中的化合物 31, 化合物 31 的 NO 双齿配体受 Cu^{2+} 作用发生胺的脱氢反应, 形成席夫碱- Cu^{2+} 络合物的, 导致荧光增强。加入 EDTA 没有变化, 说明化合物 31 和 Cu^{2+} 反应不可逆转。

Harriman 组设计了图 4-65 中的 BODIPY 衍生物, 分子中的配位基是三联吡啶(terpy), 和 Zn^{2+} 配位时, 在 330 nm 处有新吸收带, X-衍射数据表明新的吸收带归属于 Zn^{2+} -三联吡啶结构。

3. Hg^{2+} 探针

随着工业生产和城市现代化的不断进步, 环境污染已经成为一个全球性的问题。其中, 金属污染占了很大的比例。常见的污染金属离子有 Cr^{6+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 等, 由于其半衰期长, 进入人体并累积到一定浓度后, 便会对人的身体健康产生严重的影响。因此, Hg^{2+} 的检测在环境保护及人体健康等方面有着重要的意义。最近的几年里, 有关 Hg^{2+} 化学传感器的研究有了更多的报道^[334]。

(1) 冠醚类 Hg^{2+} 传感器

Hg^{2+} 化学传感器的设计首先考虑使用适合结合阳离子的冠醚类化合物。

有报道以硫原子代替冠醚中氧原子,发现其对 Hg^{2+} 等亲硫的重金属离子有着较好的选择性^[203]。以此为基础,设计了一系列 Hg^{2+} 的化学传感器。

最初的冠醚类 Hg^{2+} 传感器由冠醚和吡啶荧光团相结合^[335],加入 Hg^{2+} 后传感器的荧光强度有所增加,发射波长位置没有变化,有好的选择性和高的灵敏度,最低检出限为 $5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。随后的报道又将类似的冠醚结构与另一种荧光基团(硼化二吡咯甲基)相连得到化合物作为 Hg^{2+} 的化学传感器,硼化二吡咯甲基基团有好的光稳定性、高的荧光量子产率($\Phi > 0.5$),以及能在较长波长下(约 500 nm)激发等优点^[199]。

除了含 S 原子的冠醚外,在 Hg^{2+} 化学传感器的设计中,含 N 原子的冠醚也经常用到。Porter 等人^[205]设计并合成了化合物 6 和化合物 7 作为 Hg^{2+} 的选择性探针,探针在和 Hg^{2+} 配位后,吸收光谱发生红移。

纯冠醚结构对 Hg^{2+} 配合能力差,但是开链多醚对 Hg^{2+} 的结合较好。研究表明,开链醚的链长对 Hg^{2+} 的结合能力有很大影响^[208]。

(2) 多胺类 Hg^{2+} 传感器

研究发现,过渡金属和重金属与多胺配体有着很好的结合性,因而多胺配体在离子传感器的设计中有着重要价值。然而,由于多胺配体有着较强的结合能力,其选择性往往较低,这是多胺配体在化学传感器设计中的一个难点。

以大环多胺为识别基团的荧光化学传感器也是一个研究热点^[214]。 Hg^{2+} 络合到大环多胺后,增加了环内张力,破坏了激基缔合物的结构,荧光强度随着 Hg^{2+} 浓度的增加而下降,直至完全被淬灭。钱旭红等人^[215]合成了 PET 型传感器。朱为宏等人^[216]以 DCM 染料作为荧光团,二胺甲基吡啶作为识别基团,合成的化合物是一个对 Hg^{2+} 和 Cu^{2+} 具有选择性的荧光化学传感器,这种次序依赖性的荧光响应使得化合物可以作为具有记忆功能的分子逻辑门器件。

(3) 杯芳烃类 Hg^{2+} 传感器

杯芳烃类在化学传感器的设计中有着非常重要的位置,灵敏度、选择性及配位的效率都是杯芳烃类化合物的独特的优点。而杯芳烃的大小、电子给体的类型及取代基的位置对于离子的选择性有很大的影响,使得杯芳烃在设计时有着较大的灵活性,特别是对以杯[4]芳烃作为金属离子选择性载体的研究文献报道最多。

(4) 其他类型 Hg^{2+} 传感器

很多人试图利用强荧光的过渡金属络合物来设计 Hg^{2+} 的化学传感器。

Soto 等人^[336]报道了 Ru^{2+} 的三吡啶络合物 19, 可用作 Hg^{2+} 的荧光化学传感器。使用含有 N 和 O 的大环作为识别基团, 确保了传感器对 Hg^{2+} 的选择性。在 $\text{pH}=5\sim 9$ 之间, Hg^{2+} 的加入使得该传感器的荧光增加 60%, 其他离子则没有较大影响。值得指出的是, 该传感器荧光的增加可能是由于传感器的识别基团同 Hg^{2+} 配合以后, N 原子的孤对电子不再能够参与光致电子转移过程, 从而使荧光增强(图 5-16)。

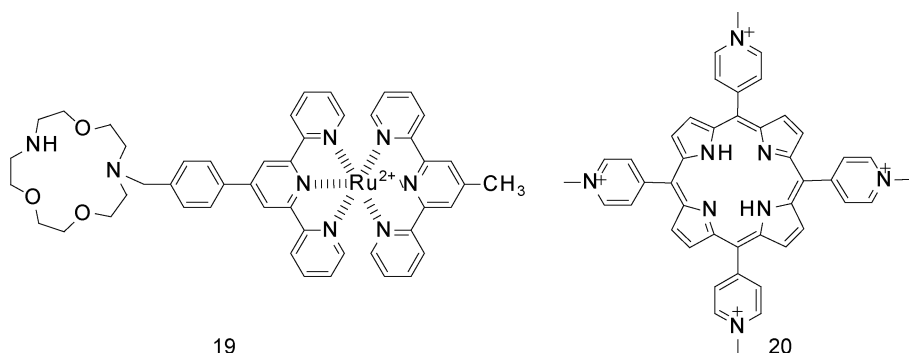


图 5-16 化合物 19 和化合物 20 的分子结构式

(5) 反应型 Hg^{2+} 化学传感器

Hg^{2+} 可以与许多含硫化合物发生作用, 是一种嗜硫的重金属离子。例如汞促进氨基硫脲转化为 1,3,4-噁二唑的反应, 诱导硫脲衍生物脱硫化氢成脒反应^[165], 以及与硫羰基化合物发生脱硫反应生成相应的羰基化合物^[166]。基于这些化学反应, 反应型 Hg^{2+} 化学传感器通过巧妙设计的分子结构, 把反应活性基团与荧光团或发色团结合起来, 利用反应前后传感器光物理性质的不同, 来对 Hg^{2+} 进行检测, 反应后 Hg^{2+} 一般以硫化汞的形式存在。另外, 水溶液中 Hg^{2+} 可以与炔烃或烯烃发生羟汞化反应, 也可以作为反应型化学传感器分子设计的基础。

由于某些反应很灵敏, 使得相应的荧光传感器也具备很高的灵敏度, 同时反应型传感器也可以实现在细胞内的汞离子成像。以下是一些反应型的 Hg^{2+} 传感器。

化合物 31^[337] 是基于开环反应的 Hg^{2+} 荧光传感器。在 $\text{DMF}:\text{H}_2\text{O}$ 的体积比为 1:1 的溶液中, 与 Hg^{2+} 作用后, 化合物 31 与 Hg^{2+} 以 2:1 的比例络合, 溶液变为粉红色。化合物 31 的响应时间小于 1 min, 适应的 pH 范围为

3~9,并且能够在 RSC96 细胞中对 Hg^{2+} 成像(图 5-17)。

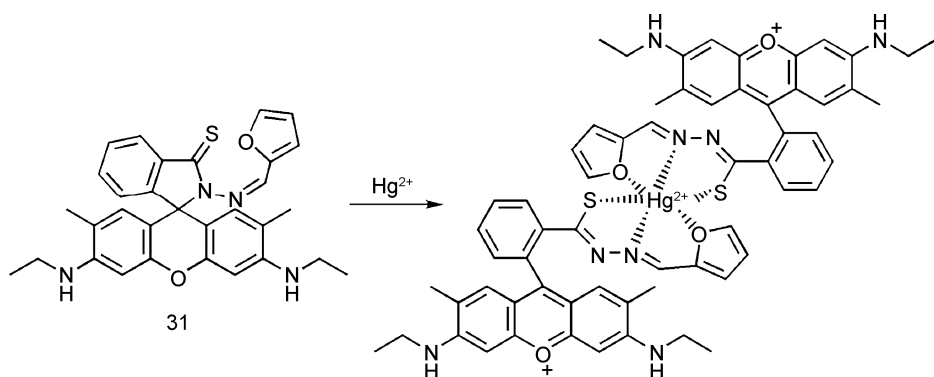


图 5-17 开环反应型 Hg^{2+} 荧光传感器 31 的分子结构式及反应机理

化合物 32^[338] 是基于脱硫成环反应 Hg^{2+} 的荧光传感器。在 DMF : HEPES 体积比为 4 : 6 的溶液中,化合物 32 没有罗丹明 B 的特征吸收和荧光发射,加入 Hg^{2+} 之后,发生了脱硫成环的反应,导致罗丹明螺环打开,产生了罗丹明 B 的特征吸收和发射,从而完成了对 Hg^{2+} 的比色检测和荧光检测(图 5-18)。

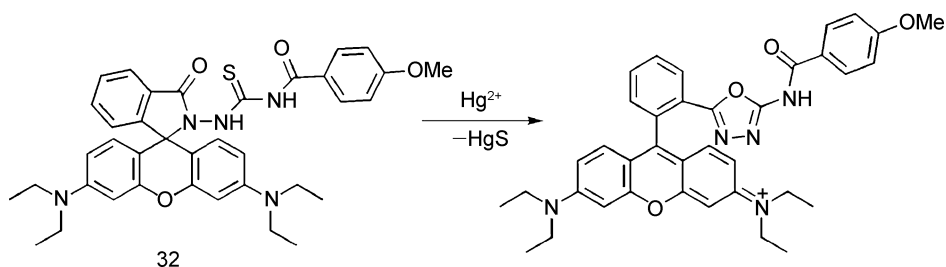
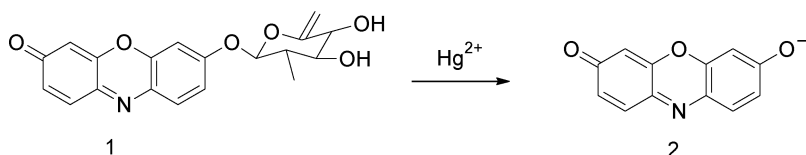


图 5-18 脱硫成环反应型 Hg^{2+} 荧光传感器 32 的分子结构式及反应机理

魏国华等课题组^[339]制备出一种对于 Hg^{2+} 有响应的荧光探针。如图 5-19 所示,荧光探针由一个荧光团和一个残糖基团组成,引入的残糖基团提升了探针的水溶性和生物兼容性,甚至能够以 100% 的水作为媒介进行检测,探针末端所连的两个羟基在检测 Hg^{2+} 时发挥了很重要的作用。该荧光探针主要是通过 Ferrier carbocyclization 反应来达到检测目的,首先 Hg^{2+} 与双键配位形成 离子,水分子进攻亲电中心形成 H^+ ,水解使得荧光团与残糖基团脱离。实验证明这是一种水溶性好、快速高效简便、可以应用于细胞检测的荧光探针。

图 5-19 化学反应型荧光探针 1 对于 Hg^{2+} 的检测反应机理

Injae Shinke 等学者^[176]文献报道了以荧光素为荧光团的检测 Hg^{2+} 的荧光探针。如图 5-20 所示,由于荧光素中的乙烯基保护了酚羟基,从而使得荧光探针的量子产率降低。加入 Hg^{2+} 之后,羟基脱保护,荧光探针形成了高荧光量子产率的氧负离子结构,从而使荧光强度变强,检测限为 1 nmol/L。

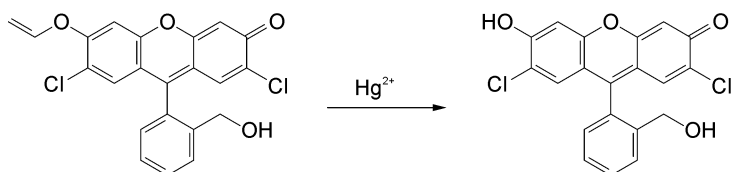
图 5-20 化学反应型荧光探针对于 Hg^{2+} 的检测反应机理

图 3-13 中,由于具有高灵敏度,选择性荧光化学传感器得到了很大的开发,特别是金属离子的比色传感器,利用宿主-客体识别相关的不可逆性,来比率测定分析物浓度。脱硫反应通常需要使用升高的温度或过量的 Hg^{2+} 。其他金属离子,例如 Ag^+ 和 Pb^{2+} , 尽管比 Hg^{2+} 具有更低的亲疏性,也可以促进脱硫反应。因此, Hg^{2+} 的最佳比率式血液透析仪必须具有环境温度下的快速响应时间和选择性,以及化学计量检测 Hg^{2+} 的能力。剂量计应该在水性介质中操作并且能达到检测十亿分之几水平的 Hg^{2+} 的灵敏性。只有少数荧光化学传感器用于重金属离子,利用 5 螺内酰胺(非荧光)来开环罗丹明衍生物的酰胺(荧光)平衡,因此设想将该过程与化学计量和不可逆的 Hg^{2+} 促进反应联系起来。氨基硫脲形成 1,3,4-噁二唑 7 作为新型 Hg^{2+} 化学计量仪的基础。罗丹明衍生物 1 是这种应用的理想选择,当硫代氨基脲部分被 Hg^{2+} 释放时,它将经历噁二唑的形成,促进了螺环基团的开环。开发基于衍生物 1 的比色和荧光化学计量系统的研究表明,该系统对水溶液中的汞离子具有高灵敏度和选择性。罗丹明衍生物 1 由罗丹明 6G 以高产率通过两步法制备(1, $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, MeOH , 95%; 2, PhNCS , DMF , 90%)。该物质形成无色的水-甲醇(80)($\text{pH}=7$)的溶液,表明它主要以螺环形式存在。向衍生物 1 的溶

液中加入汞离子会引起粉红色的瞬间发展和强烈的黄色荧光。该观察结果表明,汞诱导的开环反应在室温下快速发生。使用 pH=7 的 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ 水-甲醇 (体积比为 80 : 20) 溶液进行 Hg^{2+} 的荧光滴定。加入 1 当量的 Hg^{2+} 后,溶液 1 的荧光强度经历约 1 小时,增加 26 倍,发射最大值从 553 nm 变为 557 nm。这些变化在测量的时间范围内 ($<1\text{ min}$) 很好地完成。观察到的荧光强度几乎与 Hg^{2+} 浓度成比例。加入 1 当量 Hg^{2+} 后荧光强度的饱和行为表明 Hg^{2+} 化学计量仪具有 1 : 1 的化学计量。该化学计量的进一步证据来自在室温下使用 1 当量的 $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ 的乙腈 (产率 98%) 从化合物 1 独立合成化合物 4。化合物 4 具有大的摩尔吸光系数 ($\log 4.67$) 和高荧光量子产率 ($\Phi=0.52$)。当使用不同的汞盐如 HgCl_2 和 $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$ 时,得到类似的结果。此外,各种钠盐,包括 NaCN 、 NaI 、 NaF 和 NaOAc , 在用于 Hg^{2+} 滴定的相同条件下不会促进任何荧光变化。

(6) 汞促进脱硫和脱硫醇反应

化合物 24 是第一个用于检测 Hg^{2+} 的探针^[169]。硫代酰胺基团是分子内荧光淬灭基团,通过光诱导电子转移过程可以淬灭传感器 24 中蒽荧光团的荧光,当加入 Hg^{2+} 后,传感器 24 发生脱硫反应,生成羰基产物 25,导致 PET 过程被打断,从而使体系荧光增强了 56 倍。在水溶液中检测时响应较快,加入 Hg^{2+} 10 min 后可以达到 87% 的饱和荧光强度。然而,传感器 24 也可以与 Ag^+ 发生反应,并产生较明显的荧光增强,这使得它的选择性受到限制(图 5-21)。

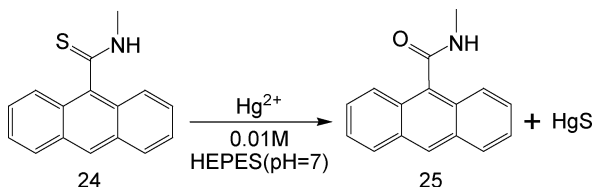


图 5-21 化合物 24 与 Hg^{2+} 的反应机理

(7) Hg^{2+} 促进硫脲衍生物脱硫化氢分子内成环反应

荧光增强和淬灭型化学传感器只涉及在单一波长上发光强度的变化,比率荧光检测则包含了在两个不同波长处荧光强度的对比。比率检测能够消除诸如样品浓度、周围环境及仪器条件的微小变化,在化学和生物学检测方面有着独特的优势。

(8) Hg^{2+} 荧光传感器的研究现状

近年来,多种金属离子荧光传感器已经被设计合成。过渡金属和重金属离子的荧光传感器更是研究的重点,其中基于 PET、ICT、FRET 等机理所设计的 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 等荧光传感器研究较为广泛。

Hg^{2+} 荧光传感器的研究进展按识别机理分类如下:

① 基于 PET 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器的研究现状

PET 在设计荧光传感器时应用广泛。此类传感器的荧光团多为 BODIPY 类、萘酰亚胺类和荧光素类等。PET 型的 Hg^{2+} 荧光传感器化合物 26^[190],在甲醇中化合物 26 与 Hg^{2+} 以 1 : 1 的络合作用后,在 520 nm 波长处 BODIPY 荧光团的荧光明显增强,能够在 HeLa 细胞中对 Hg^{2+} 成像(图 5-22)。

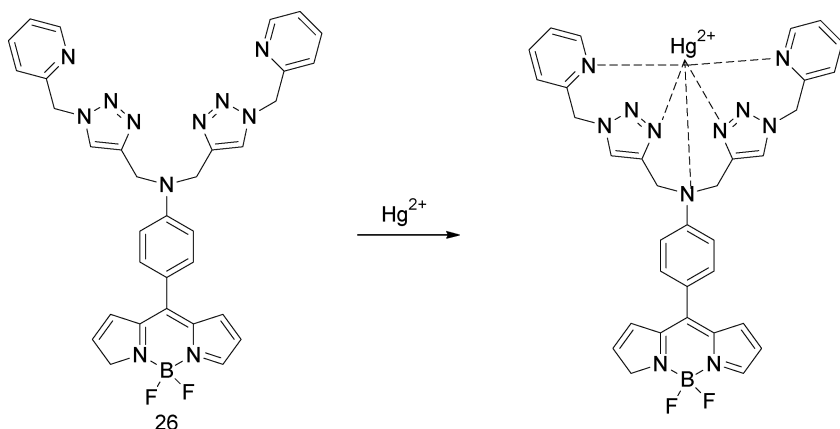


图 5-22 基于 PET 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器 26 的分子结构式及反应机理

化合物 27 也是基于 PET 的 Hg^{2+} 荧光传感器,其识别机理是一个具有氧化特性的 PET 过程(图 4-41)。

② 基于 ICT 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器的研究现状

在分子结构中,基于 ICT 机理的荧光传感器通常是将含 N 原子的识别基团直接连接到荧光团上,这样 N 原子对荧光团和金属离子都起到了电子供体的作用。例如 Hg^{2+} 荧光传感器化合物 28^[192],它的分子是由两个萘基团构成的席夫碱结构。在 DMSO 溶液中,未加入 Hg^{2+} 时,化合物 28 因为 TICT 的作用,两个萘分子不在同一平面上,故而以 356 nm 激发,化合物 28 本身没有荧光发射。化合物 28 与 Hg^{2+} 以 2 : 1 的络合比络合后,在 413 nm 波长处发

射出蓝色荧光,观察到溶液颜色由黄色褪为无色,能裸眼识别,响应时间为 150 min(图 5-23)。

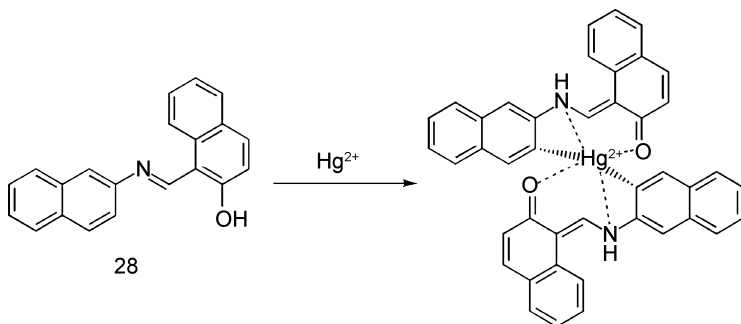


图 5-23 基于 ICT 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器 28 的分子结构式及反应机理

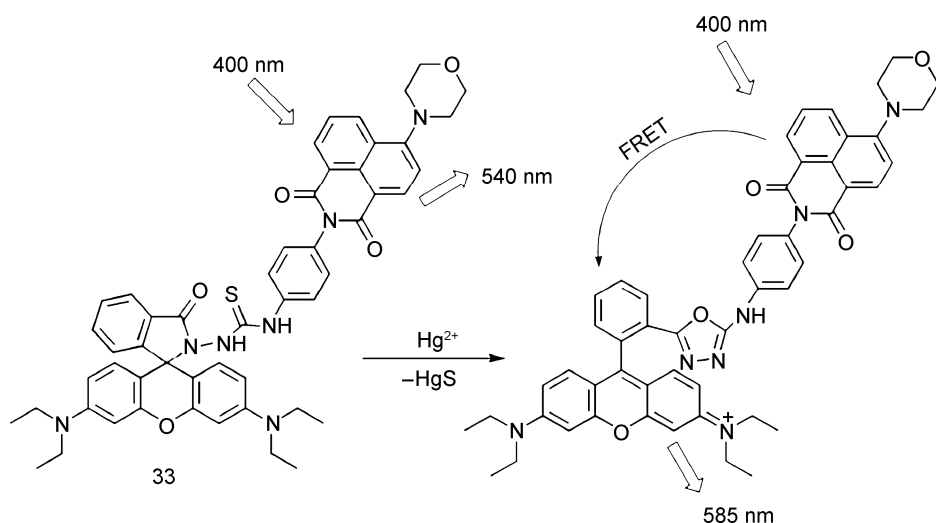
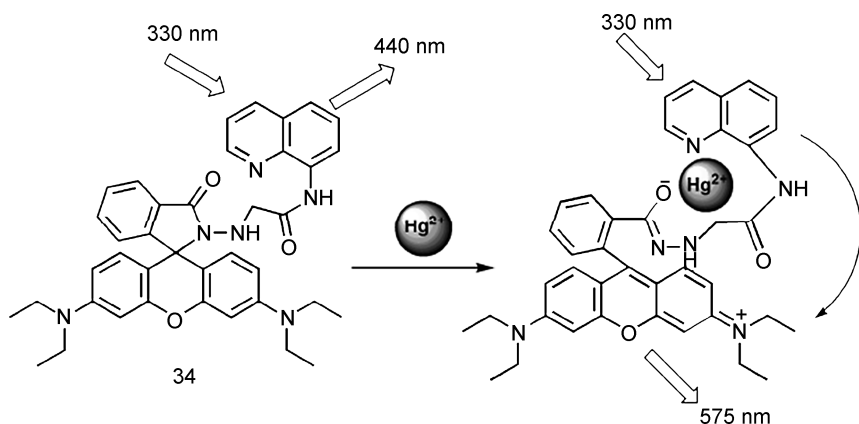
同样在 365 nm 激发下,化合物 29a 和 29b 均能识别 Hg^{2+} 和 F^- ,与 Hg^{2+} 作用后,化合物 29a 由深蓝色变为黑色,化合物 29b 由黄色变为黑色。在 THF 溶液中,化合物 29a 和化合物 29b 的检测限分别是 3.0×10^{-8} mol/L 和 4.9×10^{-8} mol/L,符合 ICT 机理传感^[193](图 4-43)。

③ 基于 FRET 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器的研究现状

基于 FRET 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器的设计虽然受到很多条件的限制,但它们的性能都是十分优异的。

化合物 33^[340]是以 1,8-萘酰亚胺为能量给体,罗丹明 B 为能量受体的 FRET 型荧光传感器。在 $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ 体积比为 2 : 1 的溶液中,以 400 nm 波长激发,只有在 540 nm 处出现 1,8-萘酰亚胺的发射峰;加入 Hg^{2+} 后,以 400 nm 波长激发,出现了 585 nm 处罗丹明 B 的发射峰,能量由 1,8-萘酰亚胺传递到罗丹明 B, FRET 过程产生。其适宜 pH 范围为 5.7~11.0,能量转移效率为 86.3%(图 5-24)。

化合物 34^[341]是以喹啉为能量给体,罗丹明 B 为能量受体的 FRET 型荧光传感器。在 HEPES 缓冲液(pH=7.4, 2% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)中,未加入 Hg^{2+} 时,以 330 nm 波长激发,只有在 440 nm 处出现喹啉的发射峰;加入 Hg^{2+} 后,以 330 nm 波长激发,出现了 575 nm 处罗丹明 B 的发射峰,能量由喹啉传递到罗丹明 B, FRET 过程产生。30 min 后,溶液变为粉红色。并且,化合物 34 能够在 HeLa 细胞中对 Hg^{2+} 成像(图 5-25)。

图 5-24 基于 FRET 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器 33 的分子结构式及反应机理图 5-25 基于 FRET 机理的 Hg^{2+} 荧光传感器 34 的分子结构式及反应机理

(9) 激基缔合物型 Hg^{2+} 荧光传感器的研究现状

蔡、葱、芘等荧光团具备较长的激发单线态寿命,容易形成激基缔合物,常被用于激基缔合物型荧光传感器的设计。除前文所述化合物 20 外,化合物 30 也是此类型的 Hg^{2+} 荧光传感器。化合物 30 与 Hg^{2+} 能形成“T—Hg—T”键,激基缔合物的峰随着 Hg^{2+} 的不断加入而逐步增强(图 4-44)。

4. 铜离子探针

一些过渡金属元素是生物体中必需的微量营养素,而在这些过渡金属元素中,二价铜离子在细胞过程中起着催化各种金属酶的作用,其中包括络氨酸

酶、细胞色素 C 氧化酶和超氧化物歧化酶。铜元素的匮乏会导致一些疾病,例如贫血、脑组织萎缩、精神发育受阻、形成脑血栓和动脉硬化等^[342]。同样如果铜的浓度超过人体所需的浓度,也会引起例如家族性肌萎缩侧索硬化症、威尔逊氏症、阿尔茨海默病、帕金森病和门克斯病等病症。由于 Cu^{2+} 的这些重要的生物作用,近几年来开展了对 Cu^{2+} 荧光探针的研究,由此可见,铜离子

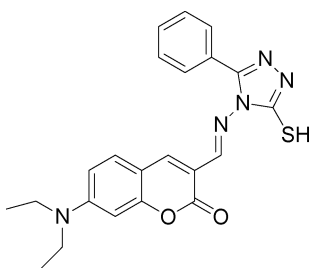


图 5-26 化学反应型荧光探针 IC 的分子结构式

子在化学、医学、环境学和生命科学中具有非常重要的作用。合理设计的基于香豆素的荧光传感器亚氨基香豆素(IC)对水溶液中各种竞争金属离子中的 Cu^{2+} 具有高选择性,荧光显著增加。DFT/TDDFT 计算支持 IC 的荧光“开”,源于其在与 Cu^{2+} 络合时阻断氮孤对的电子转移。IC 成功应用显微成像技术检测 LLC-MK2 细胞体外和体内的 Cu^{2+} ^[343](图 5-26)。

Coppersensor-1 (CS1, 4) 是一种新型水溶性开启式荧光传感器,对于 Cu^+ 具有高选择性和灵敏度(图 4-45)。共聚焦显微镜实验进一步证实 CS1 是膜可渗透的,并且可用于监测活细胞内的细胞内 Cu^+ 水平。检测 Cu^+ 的难度超过 Cu^{2+} , 因为生物环境中有效 Cu^+ 传感器所需的性质包括对丰富的细胞金属离子的选择性、与生物样品的相容性、水溶性和膜渗透性、长波激发和发射曲线以最小化样品损伤和天然细胞自发荧光,以及开启或比率荧光响应以获得卓越的空间分辨率。良好光学性和生物相容性的 BODIPY 荧光团与 CS1 富含硫醚的受体结合,能够选择性和稳定地结合水中的软 Cu^+ 。已有报道相关的苯基桥联 BODIPY 与硫醚大环化合物用于检测乙腈溶液中的 Cu^{2+} 。在模拟生理条件(20 mmol/L HEPES, 缓冲液 pH=7)下评估 CS1。探针显示 BODIPY 发色团的光学特征,apo 探针在可见区域显示两个吸收峰在 510 nm 处和 540 nm 处,相应的发射峰最大值在 566 nm 处。由于 azatetrathia 受体的 PET 淬灭,CS1 以其 apo 形式($\Phi=0.016$)显示弱荧光。 Cu^+ 结合的 CS1 的吸收光谱在 540 nm 处显示单个主要可见吸收带,肩部在 530 nm 处^[344]。

5. 锌离子探针

一种简单的用于 Zn^{2+} 的 PET 荧光传感器(BDA),其利用 1,3,5,7-四甲基-硼二吡咯甲烷作为报告基团,二(2-吡啶甲基)胺作为 Zn^{2+} 的螯合剂已被合成和表征。BDA 在可见光范围内具有激发波长(491 nm)和发射波长

(509 nm)。BDA 的无锌和锌结合态的荧光量子产率分别为 0.077 和 0.857。 pK_a 低至 2.1 ± 0.1 , 与基于荧光素的 Zn^{2+} 传感器相比, BDA 具有对 pH 敏感性较低的优点, 并且锌结合的荧光发射在 $pH = 3 \sim 10$ 的范围内变化程度与 pH 无关。在生理条件下, Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 等金属离子几乎没有干扰。表观解离常数(K_d)为 $(1.0 \pm 0.1) nmol/L$ 。使用荧光显微镜, 传感器显示能够成像细胞内的 Zn^{2+} 变化^[345](图 5-27)。

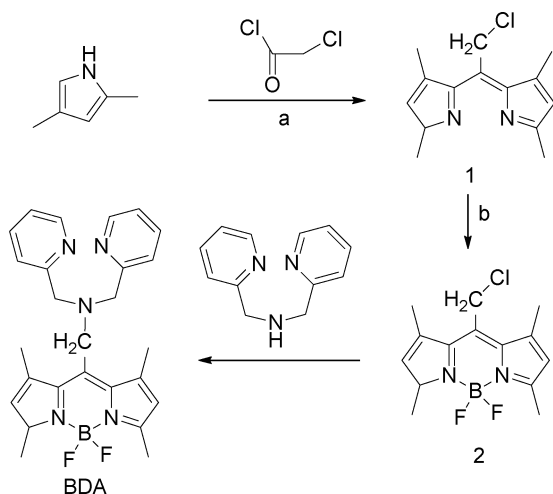


图 5-27 BDA 的合成机理

锌离子是人体内含量第二的过渡金属, 仅次于钙离子, Zn^{2+} 在人体内扮演了一个重要角色, 能影响 DNA 的合成、基因表达和神经传递等等。锌离子的浓度大小涉及很多生理疾病, 例如阿尔茨海默病、家族性肌萎缩侧索硬化症等, 而且, 锌离子在细胞内的浓度也要严格控制。然而, 对锌离子的检测有一定的难度, 原因是它的内部轨道是 d^{10} 电子结构, 不具有通常过渡金属的 $d-d$ 电子跃迁, 也不具有可见光谱特性, 另外, 锌离子只有成对电子, 所以没有磁信号。尽管在生物学上有一些锌离子的检测方法, 但是荧光方法可能是检测锌离子最有效的方法, 到目前为止已经有文献报道^[346]。

在图 3-54 中, 在紫外光谱上, 化合物 L 和锌离子有 271 nm 和 336 nm 两个等吸收点, 代表相应的配体和锌离子的络合。文献指出络合过程中同时有 PCT 和 PET 机理存在。Tang 组报道了新的近红外探针 DPA-Cy(图 3-55), 在乙腈的缓冲溶液中, 加入锌离子后立即反应, 荧光量子产率比没有加锌

离子的高 20 倍,选择性非常好。Komatsu 组介绍了用于锌离子比例荧光成像技术的荧光探针 ZnIC(图 3-56),在生理条件下加入锌离子后探针的荧光光谱由 543 nm 红移到 558 nm,探针和锌离子的络合过程符合 ICT 机理。荧光比率型 BODIPY 连氮杂冠醚化学传感器 53(图 4-53)对 K^+ 有高的选择性,能在可见光波长范围内激发。

席夫碱(亚胺)被认为是配位各种金属离子和它们的金属化合物的好的 π 共轭部分。通常,染料包含无环 $C=N$ 双键几乎没有荧光,原因是 $C=N$ 双键在激发态的异构化,然而带有环 $C=N$ 双键的染料有高的荧光。亚胺氮原子作为金属离子好的电子给体,通过金属离子和亚胺之间的配位键提高了结构刚性。因此在和适当的金属离子络合的基础上, $C=N$ 双键异构化能被禁阻,荧光分子能被获得。所以,席夫碱衍生物合并荧光部分可能作为金属离子光学探针的骨架。

图 5-28 中,BODIPY 衍生物带水杨醛苯胺作为金属离子螯合剂,通过引入强的胺包含三齿螯合基进入 BODIPY 单元,得到针对 Zn^{2+} 的荧光“开”分子探针 1-OH。滴加 Zn^{2+} 实验表明探针 1-OH 荧光增强,其原因可能是 Zn^{2+} 配位到席夫碱配体上,使酚去质子化和禁阻 $C=N$ 双键。负电荷在酚的氧原子上,在 BODIPY 单元上的 6-羟基吡啶表现出近红外发射。1-OH/ Zn^{2+} 的复合物在近红外区发射(680 nm),这一点使 1-OH 作为 Zn^{2+} 探针具有优势。 Zn^{2+} 荧光探针的发展是一个活跃的研究领域,然而只有一些比例计的 Zn^{2+} 荧光探针被报道。该近红外 Zn^{2+} 荧光探针能导致最小的荧光背景和最少光损伤,以及能深入组织,具有很高的应用前景^[347]。

对 1-OH 进行了锌离子光谱滴定实验,研究发现探针作为金属离子螯合剂与 Zn^{2+} 配位使荧光在近红外区增加(680 nm, Φ_f 增加 32 倍),job-plot 工作曲线研究表明在乙腈溶液中 1-OH/ Zn^{2+} 的络合比为 2:1。

分子前线轨道和 HOMO-LUMO 轨道计算表明锌离子用 6 个轨道配位比较合理,发光原理符合 CHEF 机制,1-OH 与 Zn^{2+} 络合后,荧光光谱红移到近红外。荧光分子探针 1-OH 与 Zn^{2+} 的络合有很高的选择性,有令人满意的检测限(9.7×10^{-7} mol/L)和络合常数 $[3.5 \times 10^6 (\text{mol/L})^{-2}]$,其他离子与 1-OH 的络合作用不明显,特别是 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 与 1-OH 没有络合作用,对锌离子的络合没有干扰。

荧光分子探针 1-OH 在近红外的荧光光谱的性能被用于在活体细胞

MCF-7 内检测 Zn^{2+} , 通过共聚焦显微镜观察到的荧光图像表明, 在细胞 MCF-7 内 Zn^{2+} 的检测效果令人满意, 1-OH 有潜在应用于生物体系的可能。

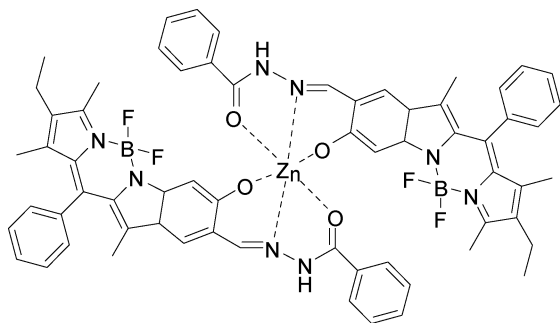


图 5-28 1-OH 与 Zn^{2+} 络合的配位结构

6. 铁离子探针

铁元素是人体中非常丰富的过渡金属元素, 在人体中的生物功能包括参与氧的吸收、氧的代谢、电子的转移等。但是 Fe^{3+} 浓度过多或者过少都会引发帕金森症, 阿尔茨海默病甚至癌症。因此, Fe^{3+} 在生理环境中的检测对于人类来说具有非常重要的意义。陈林鑫课题组制备出了一种基于 BODIPY 荧光团的荧光探针, 主要用于检测 Fe^{3+} , 同时也做了在 HeLa 细胞内的荧光成像实验。

如图 4-32 所示荧光探针主要由两部分组成, BODIPY 荧光团和羟胺基团, Fe^{3+} 能将羟胺基团氧化为甲基, 而甲基不能供电子, 所以 PET 效应消失, 导致荧光强度增强。此荧光探针对于 Fe^{3+} 有很好的选择性, 同时在 $\text{pH}=6\sim 8$ 范围内比较稳定。

7. 镉离子探针

金属镉作为一种重要重金属, 广泛应用于工业和农业生产中, 如金属电镀, 制作染色剂、制作可充电镉镍电池、制作磷酸肥等。在金属冶炼和精炼、石化燃料燃烧、垃圾污染物焚化等过程中也会产生镉, 造成人为的污染。镉离子是一种重金属离子毒害物, 对环境和人体都会造成危害。

基于 ICT 机制的细胞内发射荧光 Cd^{2+} 传感器 1 被开发。由于光谱漂移和定量检测的优点, ICT 机制已被广泛用于离子传感、分子转换和荧光标记。当荧光团含有与荧光团结合的给电子基团(通常是氨基)时, 它在光激发下经历从供体到荧光团的 ICT, 这提供了红移发射。与离子配位, 氨基失去其捐赠能力。因此, ICT 受到抑制, 发射蓝移。荧光量子产率在过程中发生变化。在

传感器 1 中,选择硼烷噻吩(BODIPY)作为荧光团,因为它在可见光区吸收和发射,具有高量子产率、大的消光系数和良好的光稳定性,和 N,N-双(吡啶-2-基甲基)苯胺作为 Cd^{2+} 受体(和 ICT 供体)。受体和 BODIPY 荧光团之间的乙烯基可以在吸收和荧光光谱中诱导更长的波长。在逐渐添加 Cd^{2+} 时,597 nm 处的发射强度和强度比 $R(F597/F697)$ 增加,可通过正常荧光和比率荧光方法检测 Cd^{2+} 。用各种金属离子荧光滴定传感器 1 显示出对 Cd^{2+} 的优异选择性^[348](图 5-29)。

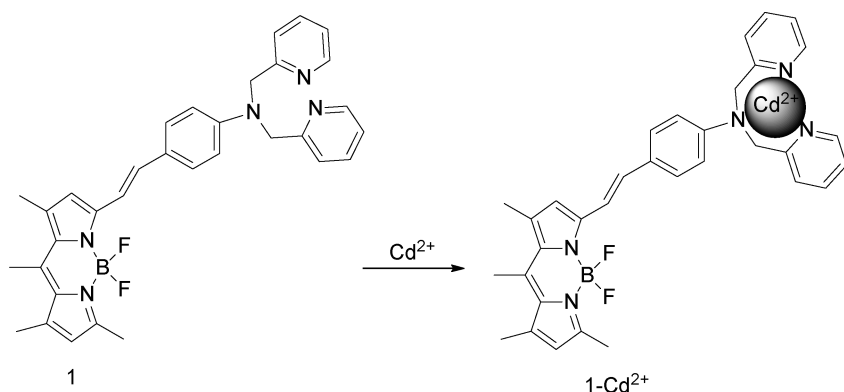


图 5-29 传感器 1 检测 Cd^{2+} 的反应机理

8. 银离子探针

银元素属于贵金属元素,在人体中微量可以起到杀菌的作用,但是过量的银元素也会对人体产生危害。Amrita Chatterjee 等学者^[184]以罗丹明为荧光团,利用 Ag^+ 与 I^- 反应生成 AgI 沉淀设计出检测荧光探针,通过化学键的断裂与重排,形成一个五元杂环,用于 Ag^+ 的检测(图 4-33)。在可见光和 365 nm 紫外灯下,观察到颜色发生了明显的变化。该探针可以用来检测溶液中的 Ag^+ ,但易受溶液中纳米银粒子的干扰。由两个荧光团和一个选择性配体组成的模块化的化学传感器,允许硼烷噻吩荧光团的易附着和衍生化,用于有效的能量转移和发射信号的调节。通过对苯二甲酰氯与 3-乙基-2,4-二甲基吡咯的反应合成化合物 3。该化合物的能量最小化(MM^+ , HyperChem v. 7.5)结构显示两个共面的硼烷噻吩并且具有几乎垂直的 1,4-亚苯基环作为间隔基。吡咯单元上的甲基确保垂直取向。吸收光谱 3 与两个非相互作用的发色团很好地相关。与 BF_2 桥相邻的甲基是微酸性的,并且在化合物 4 和

1 R = -CH₃

2 R =

3 R = -CH₃

4 R =

5 R =

9. 钴离子探针

钴元素对于人体和微生物都是很重要的营养元素。但开采不当会导致环境污染,这些污染严重地损害我们身体,从而引发多种疾病包括哮喘、间歇性

肺病、接触性皮炎、甲状腺肿等。如图 4-67 所示,是可以识别 Co^{2+} 的化学反应型荧光探针,该探针可在生物体中检测 Co^{2+} ,并应用于细胞显影实验。

10. 钯离子探针

钯元素是稀有的过渡金属元素,生活上可以用于汽车尾气处理的催化剂,在化学过程中可以作为有机反应催化剂。比较好的检测方法是只需要通过探针的光谱对比就能高效快速地检测。Kazunori Koide 等学者提出了通过化学反应来检测 Pd^0 的荧光探针,探针荧光团上的烯丙基容易与 Pd^0 发生加成反应,在亲核试剂的进攻下,烯丙基部分发生脱落,观察到荧光探针吸收和荧光发射在反应前后发生明显变化(图 4-34)。

11. 铝离子探针

铝元素主要以三价的形式存在,即 Al^{3+} ,铝元素及它的离子态 Al^{3+} 广泛分布于空气、水和土壤中,人类可以通过吃食物、饮水、呼吸空气等途径吸收一定量的 Al^{3+} 。当 Al^{3+} 在人体中的含量积累到一定程度时,它就会对人体产生毒性。由于铝离子属于比较硬的酸,根据软硬酸碱理论,铝离子一般会与含有 N 素或 O 元素配体的硬碱发生配位作用,而席夫碱一般都是含有 N 元素或 O 元素的富电子配体。因此,席夫碱配体类的荧光探针有很大一部分都是铝离子的荧光探针。虽然铝离子荧光探针的设计是一个重大的挑战,但是近些年来,还是取得了一定的成效,也有不少关于铝离子荧光探针文献的报道。

5.3 温度探针

共聚物聚(NIPAM-co-BODIPY)由 N-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)和 BODIPY 单元组成,可作为荧光温度探针在水溶液中使用^[242]。聚合物在 $< 23^\circ\text{C}$ 时表现出弱荧光,在温度上升到 35°C 时强度增加,能够灵敏地指示在 $23\sim 35^\circ\text{C}$ 的溶液温度。研究表明在不考虑热或冷过程的情况下,该温度探针有可逆的荧光增加或淬灭,有重复使用的能力。通过研究机制发现,聚合物微黏度的增加可以使聚合物有从混乱到小球状态的相变化,在小球状态的聚合物内部形成相应的黏度区域,阻止了激发态 BODIPY 单元的 meso-吡啶鎓基团的旋转,驱动热诱导荧光增加。

由 N-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)和硼杂噻吩(BODIPY)单元组成的简单

共聚物聚(NIPAM-co-BODIPY)表现为水中的荧光温度计。该共聚物在 $< 23^{\circ}\text{C}$ 下显示出弱的荧光,但强度随着温度升高到 35°C 而增加,使得能够在 $23\sim 35^{\circ}\text{C}$ 准确地指示溶液温度。热诱导的荧光增强是由聚合物微黏度的增加驱动的,这与聚合物从线圈到小球状态的相变相关。在小球状聚合物内部形成的黏性区域抑制激发态 BODIPY 单元的内消旋-吡啶鎓基团的旋转,导致热诱导的荧光增强。无论加热或冷却,聚合物都显示出可逆的荧光增强或猝灭,并且通过简单地回收过程显示出强的可重复使用性(图 5-31)。

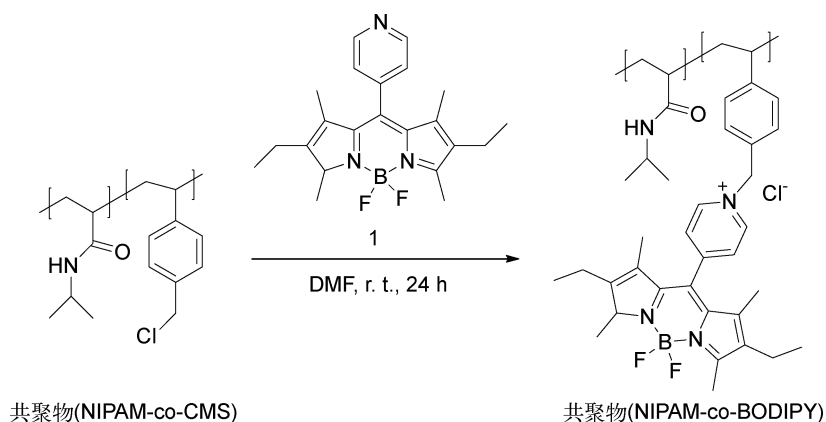


图 5-31 聚合物探针的合成和测试

环境敏感荧光探针的荧光发射性质会随环境变化而改变。溶剂的温度、黏度等外部因素的改变,会引起荧光信号的变化。对微环境敏感荧光探针的研究,对环境学、生物学和细胞学等都有着非常重要的意义。

5.4 pH 探 针

萤火虫萤光素酶对 pH 敏感,因为它们的生物发光光谱 pH 值在酸性处,在较高温度和重金属阳离子存在下显示典型的红移,而其他甲虫萤光素酶则不然,因此其他甲虫萤光素酶被称为对 pH 不敏感。尽管对萤火虫萤光素酶进行了许多研究,但 pH 敏感性的起源还远未被了解。鉴于最近的结果,对该主题进行了修订。已经鉴定了一些影响萤火虫萤光素酶中 pH 敏感性的氨基酸残基取代。序列比较,定点诱变和模拟研究已经显示了一组在 pH 敏感和

pH 不敏感的萤光素酶之间不同的残基,它们影响生物发光颜色。在两组萤光素酶中显著影响生物发光颜色的一些取代聚集在残基 223~235 (Photinus pyralis 序列)之间的环中。发现涉及残基 N229 - S284 - E311 - R337 的氢键和盐桥网络对于影响生物发光颜色很重要。这表明这些结构元素可能影响生物发光颜色的萤光素结合位点的苯并噻唑基侧。实验证据表明,对 pH 敏感的萤光素酶的残余红光发射可能在一些萤火虫物种中具有生物学重要性。此外,pH 敏感性对细胞内生物传感有潜在应用^[349](图 5-32)。

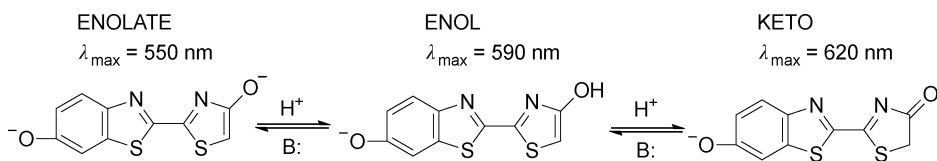


图 5-32 pH 值探针的反应机理

图 5-33 描述了 pH 响应近红外荧光成像探针 1 和 2 的合成和光物理特性。关键特征是通过炔-叠氮化物环加成反应共轭探针的能力及其在生理 pH 范围内的荧光强度的可逆响应^[350]。

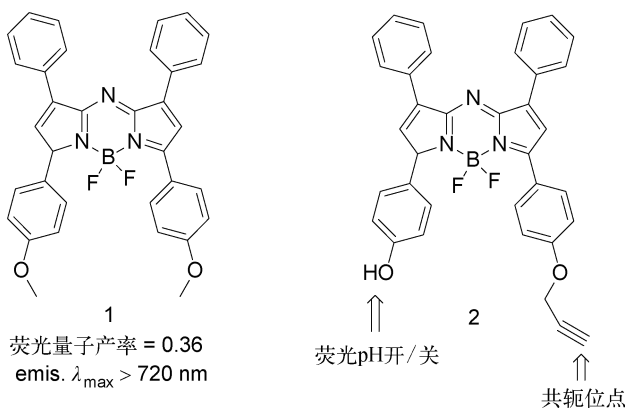


图 5-33 pH 响应近红外荧光成像探针 1 和 2 的分子结构式

5.5 细胞和生物探针

荧光分子技术在环境检测、生物成像领域的应用已受到广泛的关注与认

可,并有大量的文献报道。2008 年发展的绿色荧光蛋白(图 5-34)及大量的各种颜色的荧光蛋白体系标记技术,让研究者能够对多种蛋白和细胞进行标记,可实现同时对多个生物学过程进行研究。在临床医学中,已有在肿瘤切除的模拟手术中对肿瘤和包裹在肿瘤中的神经末端进行了双色标记的成功案例。

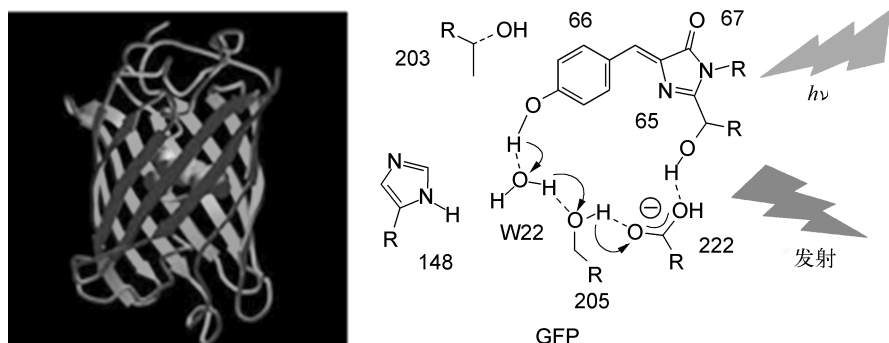


图 5-34 绿色荧光蛋白及其分子结构式

研究荧光分子探针技术所依托的设备超高分辨率荧光显微镜由三位科学家 Eric Betzig、Stefan W. Hell 和 William E. Moerner(2014 年,诺贝尔化学奖)提出。超高分辨率荧光显微镜的诞生超越了普通光学显微镜的物理识别极限。哈佛大学的庄小威教授与前面的几位科学家同时开展了利用超高分辨率荧光显微镜的研究工作,提出了使用成本低、结构简单、尺寸较小的有机小分子发光材料作为大分子荧光蛋白的替代品。图 2-3 中为化合物 1 和化合物 2 的形成及结构,在紫外光照射下,化合物 2 发生解离,恢复成荧光染料 1 的状态,过程是可逆的。

Kim 等人利用荧光团 7-氨基香豆素,合成 α, β -不饱和酮作为中间体,通过 Michael 亲核加成反应合成得到了荧光探针 12(图 2-22)。该探针是一个迅速的反应比例型荧光探针,用于谷胱甘肽的检测。

氨基酸是生物功能大分子蛋白质的基本组成单位,是构成动物营养所需蛋白质的基本物质,在人类的身体中起着非常重要的作用。其中半胱氨酸是生物体中非常重要的三种巯基氨基酸中的一种氨基酸,它对人类的健康有很大影响,如减缓儿童身高的增长、导致头发色素脱失、水肿、嗜睡、肝损伤、肌肉和脂肪的损失、皮肤损害等^[351]。

研究者设计合成了一个新的具有氰基乙烯基为识别基团的近红外化学传

感器 PHS。PHS 对 Cys 具有特定的标记功能,其化合物的分子结构式和设计路线如图 5-38 所示。羰基被 NHS 活化后可以与乙烯基发生加成反应,形成多元硫杂环内酰胺,使荧光发生变化,从而实现了对 Cys 的识别。PHS 可以选择性地对 Cys 有响应,且输出信号(图 5-35)。

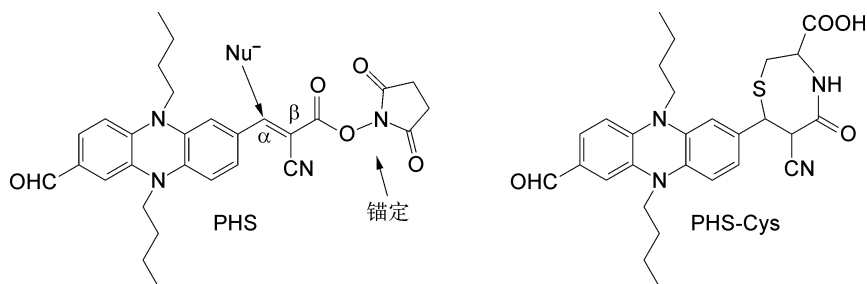


图 5-35 PHS 和其加成产物 PHS-Cys 的分子结构式

5.6 气体探针

荧光分析法是用于医学分析、环境监测和生物体内气体分子检测的重要方法。对环境或者生物体系中气体分子的检测,主要包括空气质量的检测,挥发性有机化合物的检测,临床气体的诊断,有毒试剂的检测,还有来源于工业和汽车引擎中释放的化石燃料燃烧气的监测等^[352]。8-(3,4-二氨基苯基)-2,6-双(2-羧乙基)-4,4-二氟-1,3,5,7-四甲基-4-硼-3a,4-二氮杂-s-并二苯乙烯(DAMBO-PH),基于 BODIPY 发色团,是一种一氧化氮的高灵敏度荧光探针。DAMBO-PH 的低值为 0.002,而其 DAMBO-PH 与 NO 反应的

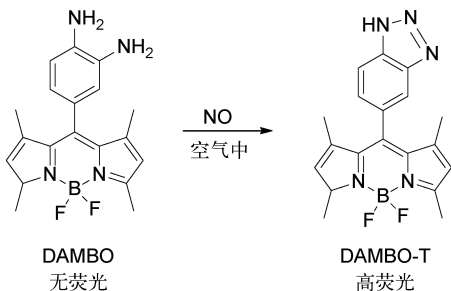


图 5-36 BODIPY 荧光探针 DAMBO 的分子结构式及其检测 NO 机理

的产物三唑衍生物(DAMBOPH-T)发出强烈荧光($\Phi=0.74$)。发现荧光强度的变化受 PET 机制控制。DAMBO-PH 的开发策略如下:为了设计高灵敏度的 NO 探针,使用 4,5-二氨基荧光素(DAF-2)检测邻苯二胺衍生物作为 NO 反应性部分的反应性^[353](图 5-36)。

5.7 逻辑门

不对称核心延伸的硼-二吡咯甲烷(BDP)染料配备了两个具有不同金属离子偏好的电子金属大环结合单元,作为离子驱动的分捕获门。将 Na^+ 响应性四氧杂-氮杂冠醚(R2)整合到 BDP 发色团的扩展 p 系统中以引发强分子内电荷转移(ICT2)荧光并保证阳离子诱导的吸收光谱变化。响应 Ag^+ 的二硫杂-氮杂冠(R1)以电子解耦的方式附着在 BDP 的内消旋位置,从而独立地控制淬灭性质的第二 ICT1 过程。双功能分子的设计使得在没有两种输入的情况下,ICT1 不与 ICT2 竞争,并且获得强荧光输出($\text{InA} = \text{InB} = 0$!, $\text{Out} = 1$)。因此,仅在 R1 处的 Ag^+ ($\text{InA} = 1$, $\text{InB} = 0$) 以及两种受体的络合 ($\text{InA} = \text{InB} = 1$) 的结合也产生 $\text{Out} = 1$ 。仅在 Na^+ 与 R2 结合且 R1 处于自由状态的情况下才发生淬灭,这是逻辑门 IMPLICATION 所需的 $\text{InA} = 0$ 和 $\text{InB} = 1$!, $\text{Out} = 0$ 状态的区别特征。布尔运算,如 IF-THEN 或 NOT。

研究者报告了一个单分子系统,作为半减法器的组合逻辑电路。发射特性可以通过化学输入调制,并且当在两个不同波长处跟随时,获得两个功能集成的逻辑门 XOR 和 INHIBIT。两个逻辑门在发射模式下起作用,并且信号强度的差异非常大,能够明确地分配逻辑 0 和逻辑 1^[354] (图 5-37)。

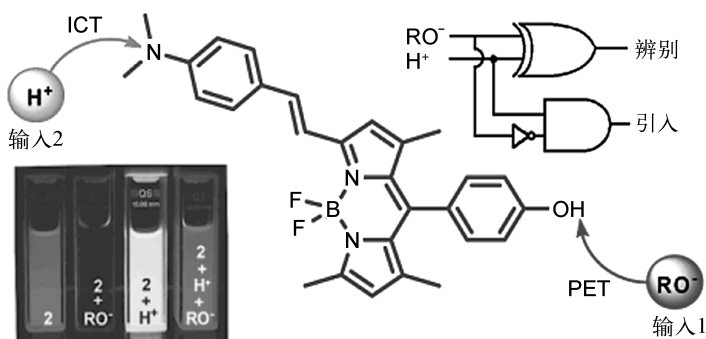


图 5-37 逻辑门

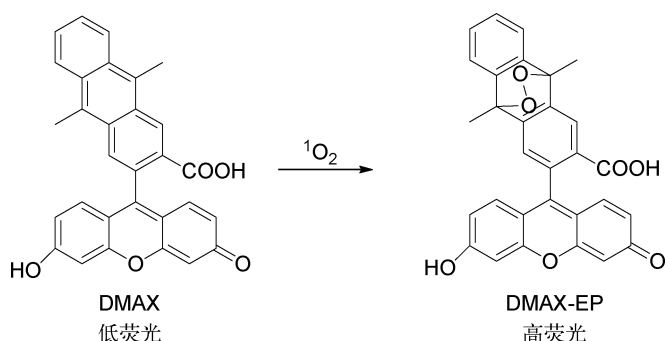
5.8 光 动 力

与 SWNT 非共价连接的苝基官能化二苯乙烯基-Bodipy 敏化剂在 660 nm 激发时,用红色 LED 阵列显示产生单线态氧;这项工作强调了 SWNT 作为生物活性剂的可行替代载体的潜力,包括作为光动力疗法敏化剂。

光动力疗法是用于治疗恶性肿瘤和年龄相关性黄斑变性的非侵入性方法。还具备在心血管疾病治疗领域的潜力,治疗通常涉及光敏剂的全身给药。由于所谓的增强的渗透和保留(EPR),敏化剂在肿瘤组织中滞留更长时间。然后,用优选红光照射肿瘤组织(由于其较高的组织渗透性)激发敏化剂,敏化剂应该在激发溶解的基态氧之前经历系统间交叉以产生高反应性和细胞毒性单线态氧。虽然卟啉是最常用的 PDT 敏化剂,但是有许多潜在的候选物具有这种作用,大多数具有令人印象深刻的特性,例如红色对近红外光的强吸收,单线态氧的有效产生,高化学稳定性和纯度,单一异构体状态。最近报道的 PDT 敏化剂中的两类染料是 Bodipy4 衍生物和 perylenediimides。Bodipy 衍生物以其发色团很容易衍生化,适应许多应用,而受到广泛关注。

5.9 单 线 态 氧

研究者合成了各种荧光素衍生物,并检测了它们的荧光特性,以及与通过半经验 PM3 计算得到的苯甲酸部分的最高占据分子轨道(HOMO)水平之间的关系。结论是荧光素衍生物的荧光性质是通过从苯甲酸部分到环的 PET 过程来控制的,并且荧光开关转换的阈值对于 HOMO 水平为 -8.9 eV 左右。 $9-[2-(3\text{-羧基}-9,10\text{-二甲基}]\text{蒽基}]-6\text{-羟基}-3H\text{-黄嘌呤}-3\text{-酮(DMAX)}$ 作为单线态氧探针,并确认它是目前已知的 $^1\text{O}_2$ 最敏感的探针。这种新型荧光探针的 $9,10\text{-二甲基蒽}$ 部分作为 $^1\text{O}_2$ 的极快化学陷阱。正如 PM3 计算所预期的那样,DMAX 几乎不发荧光,而 DMAX 内过氧化物(DMAX-EP)是强荧光的。DMAX 可用于检测各种生物系统中的 $^1\text{O}_{2[355]}$ (图 5-38)。

图 5-38 DMAX 和 $^1\text{O}_2$ 的反应机理

5.10 荧光开关

研究者系统地研究了溶剂极性依赖性的机理 BODIPY(硼二吡咯甲烷)荧光团的荧光开关阈值和 PET。在一系列具有各种取代苯的 BODIPY 衍生物中在 8 位的部分,苯部分的氧化电位变得更正和随着溶剂极性降低,BODIPY 荧光团的还原电位变得更负。因此,来自苯部分的 PET 的自由能变化在更非极性中变得更大环境。利用这一发现,设计并合成了一个探针库,其中包含阈值荧光开关切换对应于不同水平的溶剂极性。这些环境敏感探针用于检测牛血清白蛋白(BSA)和活细胞。极性在白蛋白表面与丙酮相似,而内膜的极性相似 Hela 细胞与二氯甲烷相似^[45](图 5-39)。

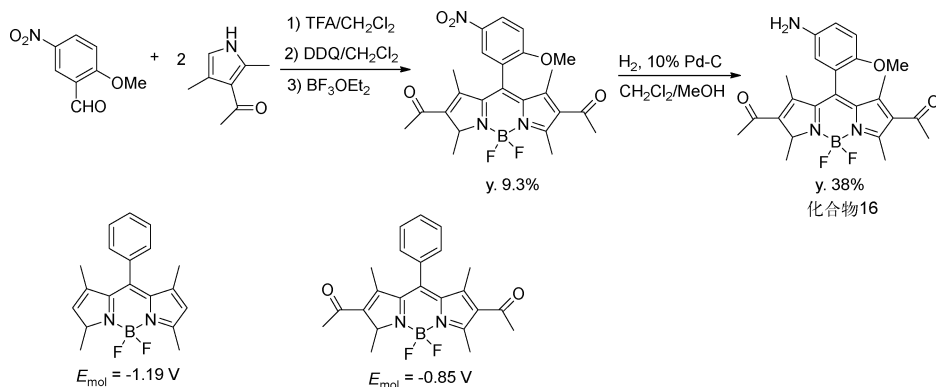
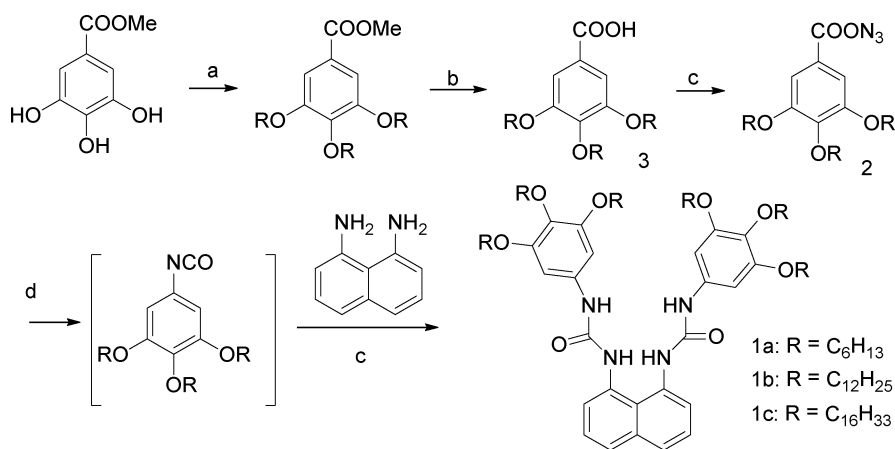


图 5-39 环境敏感探针的荧光性能和电化学性能

功能化的羧有机凝胶剂通过协同氢键和 $\pi-\pi$ 堆积相互作用设计和合成。该胶凝剂在各种溶剂中表现出优异的胶凝能力,并且可以进行凝胶状态下的可切换荧光。这些化合物的荧光发射很大程度上取决于荧光团的聚集,对温度和化学刺激非常敏感。与原始溶液相比,一个更强大和红移在凝胶状态下发现了发射。系统的凝胶-溶胶转变,如荧光发射,可通过温度变化或替代添加来可逆地控制氟阴离子和质子。结果是氟阴离子对荧光和凝胶溶胶过程的影响通过氟化物阴离子与凝胶剂的脲基团的键合来解析分子间氢键。加入三氟乙酸后,再次将所得溶胶转变为凝胶状态。此外,极化光学显微镜和小角 X 射线散射表明,胶凝剂具有液晶性质显示列阶段^[356](图 5-40)。



(a) RBr, K₂CO₃, KI, 丙酮, 回流; (b) NaOH, 乙醇, HCl; (c) SOCl₂, NaN₃, THF;
 (d) 重排; (e) THF, 回流

图 5-40 化合物 1a, 化合物 1b 和化合物 1c 的化学结构式和合成路线

5.11 双响应作用探针

Lou 组^[64]的探针在铜离子和抗坏血酸钠存在的缓冲溶液中颜色保持无色(探针以螺旋内酰胺形式存在),加入次氯酸盐后,溶液颜色变成品红,能定量检测次氯酸盐的浓度,检测限可以达到 8.1×10^{-7} mol/L,能在实际环境中使用。

图 4-66 中的 BODIPY 传感器,在加入 1eq 的 CuCl₂ 后,因为从 BODIPY 单线激发态到束缚了 Cu²⁺ 态的 PET 过程,荧光强度下降为 1/12,寿命下降为

1/30。在缓冲溶液用过量的 Angeli's salt (小于 $50 \mu\text{mol/L}$) 处理 Cu^{2+} [BOT1], 能产生等摩尔比率的硝酐(HNO)和亚硝酸盐, 可以对 HNO 进行快速检测, 能观察到荧光发射增加了 4.3 倍。

BODIPY 探针由 Lu 组^[357]报道, 加入 20 倍的 Hg^{2+} 后, 在 513 nm 发射带的强度增加了 32 倍, 表明电子转移被抑制在稳定的络合物中, 干扰离子对荧光强度没有影响, 加入 Al^{3+} 有轻微提高。Rochat 组^[358]的 BAPTA 在中性 pH 溶液中与 Ca^{2+} 形成稳定的 1:1 络合物, 荧光被 Ca^{2+} 的络合淬灭, 在氟离子出现后, Ca^{2+} 被部分沉淀成 CaF_2 , 底物的荧光增加。

5.12 近红外荧光分子探针

Buyukcakil 组^[359]合成了图 5-41 的近红外染料四面体苯乙烯基染料 42 和 43, 二者在氯仿中最大吸收波长在 800 nm, 最大发射波长在 835 nm, 半峰宽小于 50 nm。

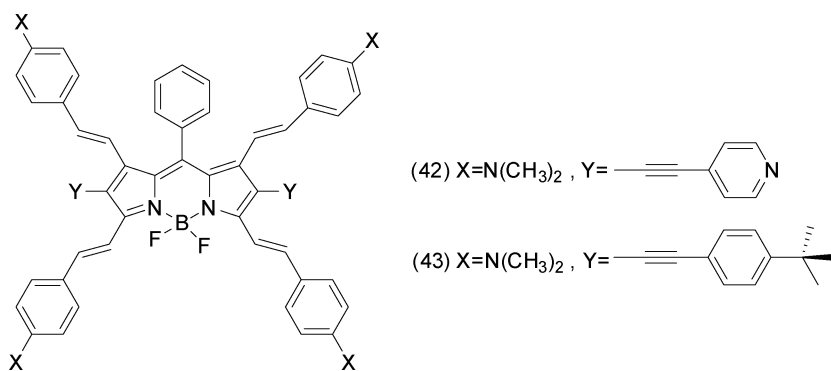


图 5-41 化合物 42 和化合物 43 的结构式

Deniz 组^[360]报道了 BODIPY 染料 44 和 45 (图 5-42), 二者在氯仿中形成绿色溶液, 荧光团吸收峰在 700 nm, 吡啶基衍生物 45 的吸收峰在 620 nm。

染料 44 和染料 45 都表现出 ICT 染料的特点, 在比氯仿极性大的溶剂中吸收光谱表现出与聚集态相关的峰。在氯仿中酸的激发能力被研究, 一定量的 TFA 被加到染料 44 的氯仿溶液中, 双倍质子物种 ($44-2\text{H}^+$) 的光谱被获得, 两个不同质子状态 ($\pm \text{TFA}$) 产生两个不同状态的吸收和荧光光谱, 染料

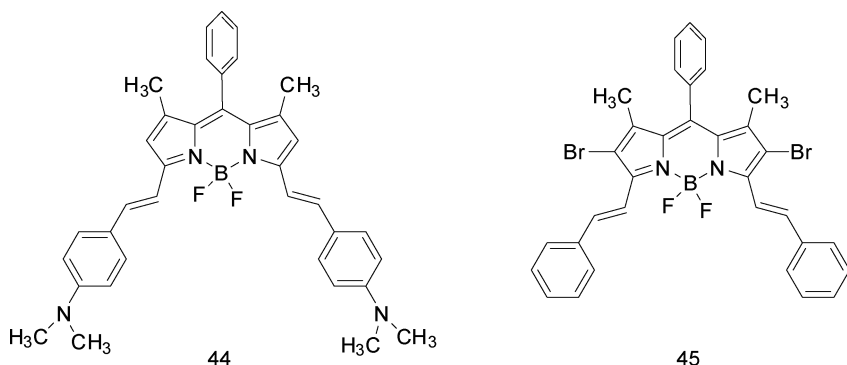


图 5-42 化合物 44 和化合物 45 的结构式

44 和染料 44-2H⁺ 的相应的发射峰分别是 753 nm 和 630 nm。

随着荧光传感器在生物学、医学领域越来越多地研究,光学穿透深度越来越多地受到研究人员的关注。相对于发射波长较短、光谱位于紫外-可见光区的荧光基团,近红外荧光探针的发射波长位于 650 nm 以后的近红外光区,长波长的近红外光具有信噪比较高、组织穿透力较强、光毒性低及对机体损伤小等优点,因此,受到了广泛的关注。随着化学合成技术的不断发展,许多新型近红外荧光染料不断被设计和合成出来,且广泛应用于不同领域。

例如,吩噻类染料是一种常见的生物代谢物和金属配合物配体,其吸收与发射都在近紫外区域。2013 年,花建丽教授课题组通过在吩噻 N 对位引入吸电子的醛基与丙二腈,构建了一个 ICT 型的吩噻近红外染料体系 3 和 4,都是用于检测 CN⁻ 的具有高选择性和高灵敏度的探针(图 3-16)。探针 5 和 6 对氰根离子具有高灵敏度,通过引入吡啶单元实现了光谱的大幅红移,是另一系列吩噻类近红外荧光探针(图 3-17)。

如图 2-23 所示的 1,8-萘二甲酰亚胺是一类具有强 ICT 性质的小分子荧光团,在其 4 位引入给电子单元而衍生出来的新的氮杂冠醚,可以选择性识别钙离子^[35]。

5.13 AIE 型荧光探针

2001 年,唐本忠教授发现,一类有机小分子只有当它们聚集在一起的时候

才会发出荧光^[361]。这些分子的形状像螺旋桨或风车,当它们堆积在一起时就会发出荧光,因为聚集在一起时,旋转受到了抑制,共平面性质得到了一定的改善,这就使得它们因旋转产生的非辐射跃迁降低,而共轭增加则产生了长波的荧光发射。唐本忠教授称这种现象为聚集诱导发光(AIE),并且定义这些分子为 AIE-gens。

在接下来的几年里,唐教授和他的学生对侧链进行了修饰,引入了氮、氧等元素,现在 AIE-gens 的发光光谱已经覆盖了从紫外光区到近红外光区的整个光谱区域。

AIE 点已被用于给各种组织进行染色,从血管到癌症细胞,再到细胞内的细胞器,如线粒体。2015 年,唐教授等报道了一个 AIE 点,在一种称为光激活的光疗中起到了有益的作用^[362]。这个 AIE 点的表面有两个分子:其中一个进入癌细胞,另一个黏到线粒体上。一旦受到外部光源的激发,这个 AIE 点会发出红光,在线粒体附近会产生氧自由基并杀死癌细胞。图 3-30 中的化合物 TPETPEFN 形成的 AIE 点比量子点发出的光要亮 40 倍。

聚集荧光淬灭(ACQ)现象是有机小分子荧光团常见的现象,由于聚集造成的堆积、碰撞淬灭、分子扭曲等行为都会提高染料激发态的非辐射跃迁概率,因此,如何避免聚集荧光淬灭现象一直是有机光功能材料研究领域的重要课题。聚集荧光淬灭效应也被用于荧光探针的研究领域中,如麻省理工学院的 T. Swager 教授、陕西师范大学的房喻教授都在共轭聚合物超淬灭荧光传感器方面取得了重要的研究成果。2001 年,一个与普通荧光染料聚集荧光淬灭现象相反的发光现象被唐本忠教授的课题组揭示,带六个苯基的 Silole 化合物 HPS 在溶液中没有发光的现象,而当它在硅胶板上干燥后,发出了强烈的荧光(图 3-31)。

到目前为止报道的四苯乙烯(TPE)及化合物 17~21 等都是具有 AIE 效应的简单荧光分子结构(图 3-32)。TPE 结构简单、容易合成、荧光稳定性好,且具有良好的 AIE 效应等优点,受到了研究者们高度关注。

如图 3-33 所示,在具有 AIE 特性的四苯乙烯上连接具有可以特异性结合银离子与汞离子的腺嘌呤基团和胸腺嘧啶基团,可以检测银离子与汞离子。

聚集诱导发光材料的显著特性就是在分散相中没有荧光,聚集后能够发出荧光。可以利用这一特性来检测环境中某些挥发性溶剂及其蒸汽(VOC)的存在,这在环境监测中能够起着很大的作用。

具有 AIE 效应的化合物在生物探针方面有很好的应用。在具有聚集诱导发光效应的材料上连接羟基、氨基、磺酸基等亲水性功能团,能够使化合物的水溶性增强,在缓冲液中就会产生荧光淬灭现象,但当其与某些目标分子结合之后就会重新产生荧光,达到检测的作用。图 3-34 中 TPE 的磺酸盐衍生物 28 具有 AIE 特性,对天然牛血清蛋白具有高效的识别作用。

5.14 活性氧(ROS)

活性氧和活性氮在人类体内必不可少,它们在人类的许多生物过程和生命过程中,起着至关重要的作用。人体内由于氧的存在会产生许多的活性物质,然而,过多或者过少产生活性氧,却可能引起不同症状的人类疾病^[363]。

活性氧有很多种类,包括 H_2O_2 、 ClO^- 、NO、过氧亚硝基阴离子、超氧阴离子、单线态氧等,并且研究者已经设计并合成出许多对活性氧具有选择性的荧光探针。活性氧(ROS)在人体内的疾病产生和健康防护中,有着非常重要的地位,研究活性氧有着非常重要的意义。

5.14.1 次氯酸根荧光探针

文献报道的无荧光的双通道荧光探针化合物 31,可应用于中性、酸性及碱性溶液中,并且成功在活体动物的黏膜中对次氯酸进行了检测^[129]。该部分内容可参见第 3 章。

Chang Young-Tae 课题组设计并合成了第一个用于 HClO 检测的双光子荧光探针 33 及其衍生物 34~37^[130],这些探针不仅能揭露细胞中次氯酸的分布,而且在细胞和组织系统中,能够作为开发次氯酸潜在功能的优秀工具。

如图 4-61 所示,以 BODIPY 为母体的荧光探针 38,与次氯酸反应后生成的化合物能发出绿色的荧光,可以用来显示巨噬细胞和次氯酸选择性结合的成像,在缓冲液和含酶系统对次氯酸具有高灵敏度和选择性^[225]。

5.14.2 双氧水荧光探针

图 3-68 中化合物 43 与苯硼酸发生氧化反应,之后发生水解,接着与酞甲基化物发生 1,6-消除反应生成化合物 44,产生荧光。

图 3-69 中磺酸盐化学传感器 45,对过氧化氢表现出的高选择性高于其他活性氧,基于双氧水作介质水解后有荧光增强。

5.14.3 其他 ROS/RNS 荧光探针

活性氧(ROS)在多种生命过程中起着不可缺少的作用^[364]。例如,通过致癌性转化过程,在癌细胞内会产生高水平的活性氧^[365]。

作为高度反应性的分子,分子氧的激发态单线态氧($^1\text{O}_2$)对生物系统存在潜在的破坏性。单线态氧可以氧化的各种生物分子如 DNA,蛋白质和脂质,主要机制是基于内过氧化物的形成和蒽环组成的 $^1\text{O}_2$ 诱导 1,4-环加成反应。如图 3-70 所示,唐教授和合作者报道了一个利用 $^1\text{O}_2$ 诱导 1,4-环加成反应机理合成的花菁染料 46,与 $^1\text{O}_2$ 反应后,咪唑基团被氧化,PET 作用被抑制,花菁荧光团的荧光恢复,并且其可应用于检测活细胞中 $^1\text{O}_2$ 浓度的变化。

超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)是分子氧的一价电子还原产物,具有较短的半衰期,参与如肌肉疲劳、缺血和炎症等生物体的各种生理过程。因此,在生理条件下对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 实行实时监控变得越来越重要。如图 3-71 所示,化合物 47 在细胞内与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 发生氧化反应生成荧光化合物 48。

在生物学上,NO 作为内皮衍生的松弛因子可以促进血管平滑肌松弛和在循环系统调节血管扩张,并且使大脑中的长时程增强。但是,作为一个双原子自由基,微量 NO 可以触发活性氮物种的形成,导致神经变性疾病和癌变。因此,设计实时检测 NO 的化学传感器的选择性和敏感性是非常重要的。如图 3-72 所示,化合物 49 是一个 NO 选择性的化学传感器,产生的荧光增强 700 倍。

生物体内的一氧化氮和超氧负离子可以形成过氧亚硝酰(ONOO^-)。有文献报道,通过芳基醚键与二氯荧光素基连接的酮单元化合物 50,可以与 ONOO^- 反应得到强荧光产物 51(图 3-73)。

第 6 章 进 展

由于在设计的可行性、合成方便及可控性,有机小分子荧光染料在生物传感方面的应用得以快速的发展。荧光技术已被广泛用于开发、检测分析和理解体内外复杂生物过程的非侵入性方法。研究者已经探索了多种荧光探针,有机发色团,荧光蛋白和最近开发的基于有机半导体分子或共轭聚合物的有机点,以完成具有期望的具有挑战性的检测和成像应用。

6.1 荧光技术在生物成像技术上的应用

生物成像技术在生命科学,以及医学研究领域和临床诊断过程中有着非常重要的作用。生物成像技术研究的主要是成像对象、空间分辨率、组织成像深度、成像的灵敏度和应用领域,一般分为体外成像和体内成像。但光学成像的使用因为光在组织中穿透深度有限、生物体系自发荧光干扰等因素而受到局限。生物成像主要有两个方向:首先是在微观细胞上和其他组织中的追踪成像,其次就是在活体动物以及人体层次上的分子影像成像技术。

在不同的成像技术中,荧光成像具有高灵敏度、良好的时间分辨率、大的体外和体内通量,以及灵活的成像仪器等优点。然而荧光显微成像技术是需要具有荧光效率高、光稳定性好、Stokes 位移大的荧光生色团。在之前的研究中经常用到的荧光探针主要有传统荧光染料、无机半导体量子点、硅基探针、共轭有机半导体探针等。然而这些常用的荧光染料都有一些缺点,如疏水性、易聚集淬灭、光漂白、自身毒性,还有些容易受到源背景荧光干扰、信噪比低、易受环境的影响等。而在固态时常规有机染料分子通常具有浓度聚集荧光淬

灭的效应,开发具有独特的光致发光特性,以及聚集诱导荧光增强的效应,可以避免这些问题。在有机光电子的纳米和微米结构中 π -共轭有机分子染料则提供了有吸引力的平台。通过简单的自组装过程制备纳米结构,可以实现在生物学成像或其他光学研究中的应用。

6.2 荧光技术偶联生物缀合技术的应用

荧光探针偶联生物缀合技术已广泛用于化学和生命科学中的高级荧光检测,如荧光显微镜、流式细胞术、多功能生物测定和生物传感器。在众多的生物成像技术中,荧光技术的生物相容性较好,价格便宜且容易获得成像试剂,以及有更多可操作的仪器方面具有优势,这些仪器可以在细胞水平提供更高分辨率的图像。为了以非侵入性和实时方式有效追踪活细胞,研究人员已经投入大量精力开发新的荧光探针。为阐明荧光探针或药物的生物学功能,重要的是要获得细胞内分布(局部浓度)的详细图片以及它们随时间演变的情况。目前已经研发出各种成像方法,包括荧光、拉曼散射、磁共振、光声、光热、光动力、超声、X射线及正电子发射断层成像,其中,荧光成像方法由于其简单、无创性、高灵敏度和高时空分辨率等优点而被广泛应用。

荧光成像已成为监测生物分子在细胞水平上的数量,定位和运动的强大技术。小分子荧光探针在化学、生物学、临床诊断和药物发现等多个领域得到广泛应用。目前广泛使用的荧光显微镜主要有宽场荧光显微镜、单光子及双光子激光扫描共聚焦显微镜和全内反射荧光显微镜。单光子的扫描共聚焦显微镜的使用是通过它与荧光能量共振转移(FRET)、荧光漂白的修复、荧光活化、荧光寿命的成像等实验方法相结合完成的,为生物医学研究提供了重要的方法。不过,单光子扫描共聚焦显微镜会有细胞的光损伤较大、自身背景荧光、荧光染料容易产生光漂白,以及成像深度有限等这些缺点。为避免以上缺点,在实验探索中需要提高成像深度,同时还要解决短波长的光散射、光漂白等问题,结合双光子激光技术和激光扫描共聚焦显微镜,就是实验室所用到的双光子荧光共聚焦显微镜,该技术渐渐成为新的生物学成像研究对象。双光子成像是在较高光子密度的情况下激发的,分子同时吸收吸收两个较长波长的光子,然后经过一个短的激发态寿命激发之后,能够快速发射出一个较短波

长的光子。双光子成像技术是具有长波长发射的近红外光的光,而且长波长的光对体外细胞或者活体的毒性更小,因此比单光子激光共聚焦显微镜能更适宜观察较厚的标本、体外细胞及活体的成像。

生物成像在应用上有非常重要的意义,生物荧光探针的标记在生物传感技术中有非常重要的应用,荧光生物探针标记容易受到生物体系内背景荧光的干扰、灵敏度相对较低,并且信号也容易受到环境的影响。荧光成像技术是生物分析和生物医学成像中最常用的方法之一,因为它们具有可比较的易用性、高灵敏度和高信息含量,同时能够检测多种分析物特异性的量,即使在复杂的生物系统中也是如此。荧光成像可以在环境条件下探测标本的更深层,并且还可以用光谱诊断化学敏感性,作为一种非侵入性技术提供了高时空分辨率。所有基于荧光的方法都是荧光标记或报告基因,例如作为靶标探针或传感器分子中的信号传导单元,它们可以用普通的商业仪器激发和检测。选择合适荧光团的重要特征是高亮度、优异的长期稳定性、可忽略的毒性,以及与复杂生物基质的最小非特异性相互作用。此外,人们对荧光团的兴趣越来越浓厚,它可以同时多重检测或传感和成像应用中的多种分析物或靶标。通常情况下,生物测定和生物成像信息含量的增加可以通过利用可在相同波长激发并通过其不同发射光谱区分的染料来实现,或者,可以使用供体-受体染料的组合,荧光成像受到深组织自体荧光的普遍限制。将背景自发荧光与目标荧光信号分开的一种策略是开发和使用具有近红外(NIR)波长的发射的荧光团。然而,常见的有机近红外 NIR 染料通常表现出较小的位移,重新吸收发射的光子,导致有较弱的发射和背景干扰发生。采用 FRET 策略来解决这个问题。虽然这些探测系统有效,但结构更复杂,需要更多的合成工作。

荧光探针结合生物技术已广泛用于化学和生命科学中的高级荧光检测,如荧光共聚焦显微镜、流式细胞术、多功能生物检测和生物传感器。由于常规有机染料显示出有限的亮度和较差的光稳定性,因此需要开发一些更明亮、稳定性更强的荧光探针。荧光方法的核心是荧光标记或信号分子,例如作为靶向探针或传感器分子中的信号传导单元,可以用普通的商业仪器激发和检测。合适的荧光团的重要特征是荧光量子产率高、性能稳定、毒性小,以及复杂生物基质的最小非特异性相互作用。探针中的荧光团承担了重要角色,要满足能够同时实现多重检测中或传感和成像应用中的多种分析物或靶标的检测。生物检测和生物成像中信息含量的增加是通过利用可激发的染料在相同的波

长上,不同的发射光谱来区分的,或者可以使用供体-受体染料组合。

荧光光谱法和显微镜的最新发展加上荧光标记技术的生物偶联技术的发展,促使化学和生命科学的领域的高级荧光技术的快速发展。特别是基于荧光的探测单分子水平上的生物分子相互作用的方法已经在对各种生物化学过程的理解方面取得了重大进展。荧光成像技术最关键的因素是荧光材料,已知在文献中报道过的应用于生物成像的荧光探针材料主要包括无机量子点、金属(铈)配合物、荧光蛋白、有机荧光染料,以及稀土上转换荧光纳米材料等。因此,有机染料由于具有较好的光稳定性、较低的细胞或活体毒性、较高发光效率的较好的发光材料成为生物成像探针领域研究的最主要目标。一般来说,即使是最先进的超分辨率显微镜,如果没有设计良好的荧光标签探针,也无法提供对亚细胞基质的生物学检测。

生物学发展日益受到化学发展的推动,其中一个突出的例子是小型化。分子荧光探针不仅可以进行细胞水平成像,还可以进行亚细胞成像。大部分化学生物学事件发生在细胞器内,研究人员利用荧光技术可以将注意力转向这些子结构。

有机染料在生物成像中的应用中受到限制,主要是因为它们具有比较差的耐光性及弱的水溶性等问题。近几年来,广泛应用在生物成像领域中的无机量子点荧光探针尽管具有较高亮度、较好的光稳定性以及良好水溶性的优势,但它们对体外细胞和生物活体则有较大的毒性,从而影响了它们在生物学上的进一步应用。因此,结合目前的研究进展,对有机小分子的荧光团,通过对有机小分子的表面进行改性,优化它们的配体,或者将有机荧光分子通过其他方法制备成水溶性纳米材料,同时可以避免各种缺陷,又可以优化在生物成像中的广泛应用。将有机荧光染料制备成纳米材料,既结合了有机荧光染料的优良特性,又结合了无机量子点的性质,通过一定的方法制备,使之具有优良的光学特性、良好的生物相容性、比较低的体内外的细胞毒性和较好的化学惰性。作为有广泛研究特性的有机小分子荧光染料,它们能更好地应用在生物成像中的有机小分子荧光染料的研究进展中。

本书总结了化学生物学事件的现有荧光探针,在描述和强调已有策略的基础上,旨在激发新一代荧光探针的设计,展望化学生物学进一步发展的未来前景。

参考文献

- [1] Lehn J-M. Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives[M]. Weinheim • New York; 1995.
- [2] Fischer E. Synthesen in der Zuckergruppe II[J]. European Journal of Inorganic Chemistry. 2010, 27(3): 3189 – 232.
- [3] Wu Y, Chen S J, Yang Y H, et al. A novel gated photochromic reactivity controlled by complexation/dissociation with BF_3 [J]. Chemical Communications. 2012, 48(4): 528 – 530.
- [4] Kuruvilla E, Nandajan P C, Schuster G B, et al. Acridine-Viologen Dyads: Selective Recognition of Single-Strand DNA through Fluorescence Enhancement[J]. Organic Letters. 2008, 10(19): 4295 – 8.
- [5] 夏之宁. 光分析化学[M]. 重庆: 重庆大学出版社, 2004.
- [6] Berezin M Y, Achilefu S. Fluorescence Lifetime Measurements and Biological Imaging[J]. Chemical Reviews. 2010, 110(5): 2641 – 2684.
- [7] 陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 等. 荧光分析法[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1990.
- [8] 李斌, 苗蔚荣. 过氧草酸酯类化学发光激发荧光[J]. 化学通报. 1996, 000(6): 32 – 36.
- [9] Duong T Q, Kim J S. Fluoro- and chromogenic chemodosimeters for heavy metal ion detection in solution and biospecimens[J]. Chemical Reviews. 2010, 110(10): 6280 – 6301.
- [10] Yang Y K, Yook K J, Tae J. A Rhodamine-Based Fluorescent and Colorimetric Chemodosimeter for the Rapid Detection of Hg^{2+} Ions in Aqueous Media[J]. Journal of the American Chemical Society. 2005, 127(48): 16760 – 16761.
- [11] Song F, Watanabe S, Floreancig P E, et al. Oxidation-Resistant Fluorogenic Probe for Mercury Based on Alkyne Oxymercuration[J]. Journal of the American Chemical Society. 2008, 130(49): 16460 – 16461.
- [12] Suksai C, Tuntulani T. Chromogenic anion sensors[J]. Chemical Society Reviews. 2003, 32(4): 192 – 202.
- [13] Martínez-Máñez R, Sancenón F. Fluorogenic and Chromogenic Chemosensors and Reagents for Anions[J]. Chemical Reviews. 2003, 103(11): 4419 – 4476.
- [14] Pu L. Fluorescence of Organic Molecules in Chiral Recognition [J]. Chemical

- Reviews. 2004, 104(3): 1687–1716.
- [15] Metzger A, Anslyn E V. A Chemosensor for Citrate in Beverages[J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2010, 37(5): 649–652.
- [16] Zhong Z L, Anslyn E V. A Colorimetric Sensing Ensemble for Heparin[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2002, 124(31): 9014–9015.
- [17] 赵连城. 分子荧光探针和光量子光纤器件研究[J]. *功能材料信息*. 2011, 008(2): 8–14.
- [18] Vaughan J C, Dempsey G T, Sun E, et al. Phosphine Quenching of Cyanine Dyes as a Versatile Tool for Fluorescence Microscopy[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2013, 135(4): 1197–1200.
- [19] Lakowicz J R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*[M]. Springer New York, NY, 1983.
- [20] 吴世康. 超分子光化学导论——基础与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [21] 赵璇. 金纳米及硼酸与染料的荧光共振能量转移作用的研究[D]. 山西: 山西大学, 2012.
- [22] 姜月顺, 杨文胜. 化学中的电子过程[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [23] Kim J S, Quang D T. Calixarene-Derived Fluorescent Probes[J]. *Chemical reviews*. 2007, 107(9): 3780–3799.
- [24] Acikgoz S, Aktas G, Inci M N, et al. FRET between BODIPY Azide Dye Clusters within PEG-Based Hydrogel: A Handle to Measure Stimuli Responsiveness[J]. *Journal of Physical Chemistry B*. 2010, 114(34): 10954–10960.
- [25] Kar C, Adhikari M D, Ramesh A, et al. NIR- and FRET-Based Sensing of Cu^{2+} and S^{2-} in Physiological Conditions and in Live Cells[J]. *Inorganic Chemistry*. 2013, 52(2): 743–752.
- [26] Hush N S. Homogeneous and heterogeneous optical and thermal electron transfer[J]. *Electrochimica Acta*. 1968, 13(5): 1005–1023.
- [27] Siders P, Marcus R A. Quantum effects for electron-transfer reactions in the “inverted region”[J]. *Chemischer Informationsdienst*. 1981, 12(21).
- [28] Szacilowski K, Macyk W, Drzewiecka-Matuszek A, et al. Bioinorganic Photochemistry: Frontiers and Mechanisms[J]. *Chemical Reviews*. 2005, 105(6): 2647–2694.
- [29] Lin L Y, Lin X Y, Lin F, et al. A New Spirobifluorene-Bridged Bipolar System for a Nitric Oxide Turn-On Fluorescent Probe[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(9): 2216–2219.
- [30] 樊美公, 姚建年, 佟振合, 等. 分子光化学与光功能材料科学[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [31] Hu R, Lager E, Aguilar-Aguilar A, et al. Twisted Intramolecular Charge Transfer and Aggregation-Induced Emission of BODIPY Derivatives[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2009, 113(36): 15845–15853.
- [32] Chattopadhyay N, Serpa C, Pereira M M, et al. Intramolecular Charge Transfer of p-(Dimethylamino)benzethyne: A Case of Nonfluorescent ICT State[J]. *The Journal of*

- Physical Chemistry A. 2001, 105(44): 10025 – 10030.
- [33] Cheng X H, Tang R I, Jia H Z, et al. New Fluorescent and Colorimetric Probe for Cyanide: Direct Reactivity, High Selectivity, and Bioimaging Application[J]. *Acs Applied Materials & Interfaces*. 2012, 4(8): 4387 – 4392.
- [34] Kim G J, Lee K, Kwon H, et al. Ratiometric Fluorescence Imaging of Cellular Glutathione[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(11): 2799 – 2801.
- [35] Cosnard F, Wintgens V. A new fluoroionophore derived from 4-amino-N-methyl-1, 8-naphthalimide[J]. *Tetrahedron Letters*. 1998, 39(18): 2751 – 2754.
- [36] Mula S, Elliott K, Harriman A, et al. Energy Transfer by Way of an Exciplex Intermediate in Flexible Boron Dipyrromethene-Based Allosteric Architectures[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2010, 114(39): 10515 – 10522.
- [37] Ding L N, Chen X B, Fang W H. Ultrafast Asynchronous Concerted Excited-State Intramolecular Proton Transfer and Photodecarboxylation of Acetylphenylacetic Acid Explored by Combined CASPT2 and CASSCF Studies[J]. *Organic Letters*. 2009, 11(7): 1495 – 1498.
- [38] Ueno T, Urano Y, Setsukinai K I, et al. Rational Principles for Modulating Fluorescence Properties of Fluorescein[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, 126(43): 14079 – 14085.
- [39] Lavis L D, Raines R T. Bright ideas for chemical biology[J]. *ACS Chemical Biology*. 2008, 3(3): 142 – 155.
- [40] Treibs A, Kreuzer F H. Difluoroboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen[J]. *European Journal of Organic Chemistry*. 1968, 718(1): 208 – 223.
- [41] Vos de Wael E, Pardoën J A, van Koeveeringe J A, et al. Pyrromethene-BF₂ complexes (4, 4'-difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacenes). Synthesis and luminescence properties[J]. *Physical-Organic Chemistry*. 1977, 96(12): 306 – 309.
- [42] Zhang D K, Wen Y G, Xiao Y, Yu G, Liu Y Q, Qian X H. Bulky 4-tritylphenylethynyl substituted boradiazaindacene: pure red emission, relatively large Stokes shift and inhibition of self-quenching[J]. *Chemical Communications*. 2008, 39(39): 4777 – 4779.
- [43] Bodin J-B, Gateau J, Cois J, et al. Biocompatible and Photostable Photoacoustic Contrast Agents as Nanoparticles Based on Bodipy Scaffold and Polylactide Polymers: Synthesis, Formulation, and In Vivo Evaluation[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2022, 14(36): 40501 – 40512.
- [44] Kowada T, Yamaguchi S, Ohe K. Highly Fluorescent BODIPY Dyes Modulated with Spirofluorene Moieties[J]. *Organic Letters*. 2010, 12(2): 296 – 299.
- [45] Sunahara H, Urano Y, Kojima H, et al. Design and synthesis of a library of BODIPY-based environmental polarity sensors utilizing photoinduced electron-transfer-controlled fluorescence ON/OFF switching[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2007, 129(17): 5597 – 5604.
- [46] Erten-Ela S, Yilmaz M D, Icli B, et al. A Panchromatic Boradiazaindacene (BODIPY) Sensitizer for Dye-Sensitized Solar Cells[J]. *Organic Letters*. 2008, 10

- (15): 3299 – 3302.
- [47] Yuan M J, Zhou W D, Liu X F, et al. A Multianalyte Chemosensor on a Single Molecule; Promising Structure for an Integrated Logic Gate[J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2008, 73(73): 5008 – 5014.
- [48] Chen J, Burghart A, Derecskeikovács A, et al. 4, 4 - Difluoro - 4 - bora - 3a, 4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes modified for extended conjugation and restricted bond rotations[J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2000, 65(10): 2900 – 2906.
- [49] Kolemen S, Cakmak Y, Erten-Ela S, et al. Solid-State Dye-Sensitized Solar Cells Using Red and Near-IR Absorbing Bodipy Sensitizers[J]. *Organic Letters*. 2010, 12(17): 3812 – 3815.
- [50] Haefele A, Zedde C, Retailleau P, Ulrich G, et al. Boron asymmetry in a BODIPY derivative[J]. *Organic Letters*. 2010, 12(8): 1672 – 1675.
- [51] Zhao C C, Zhou Y, Lin Q N, et al. Development of an Indole-Based Boron-Dipyrromethene Fluorescent Probe for Benzenethiols [J]. *Journal of Physical Chemistry B*. 2011, 115(4): 642 – 647.
- [52] Tang C W, Vanslyke S A, Chen C H. Electroluminescence of doped organic thin films[J]. *Journal of Applied Physics*. 1989, 65(9): 3610 – 3616.
- [53] Huang X M, Guo Z Q, Zhu W H, et al. A colorimetric and fluorescent turn-on sensor for pyrophosphate anion based on a dicyanomethylene - 4H - chromene framework[J]. *Chemical Communications*. 2008, 41: 5143 – 5145.
- [54] Guo Z Q, Zhu W H, He T. Dicyanomethylene - 4H - pyran chromophores for OLED emitters, logic gates and optical chemosensors[J]. *Chemical Communications*. 2012, 48(49): 6073 – 6084.
- [55] Soh N, Makihara K, Sakoda E, et al. A ratiometric fluorescent probe for imaging hydroxyl radicals in living cells[J]. *Chemical Communications*. 2000(5): 496 – 497.
- [56] Dujols V, Ford F, Czarnik A W. A Long-Wavelength Fluorescent Chemodosimeter Selective for Cu(II) Ion in Water[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 1997, 119(31): 7386 – 7387.
- [57] Ji Y K, Yun J J, Lee Y J, et al. A Highly Selective Fluorescent Chemosensor for Pb^{2+} [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2005, 127(28): 10107 – 10111.
- [58] Lin W Y, Long L L, Tan W. A highly sensitive fluorescent probe for detection of benzenethiols in environmental samples and living cells [J]. *Chemical Communications*. 2010, 46(9): 1503 – 1505.
- [59] Albers A E, Okreglak V S, Chang C J. A FRET-Based Approach to Ratiometric Fluorescence Detection of Hydrogen Peroxide[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(30): 9640 – 9641.
- [60] De Silva A P, Gunaratne H Q N, Gunnlaugsson T, et al. Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches[J]. *Chemical Reviews*. 1997, 97(5): 1515 – 1516.
- [61] Yang Y M, Zhao Q, Feng W, et al. Luminescent Chemodosimeters for Bioimaging [J]. *Chemical Reviews*. 2013, 113(1): 192 – 270.

- [62] Xu Q L, Heo C H, Kim G, et al. Development of Imidazoline - 2 - Thiones Based Two-Photon Fluorescence Probes for Imaging Hypochlorite Generation in a Co-Culture System[J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2015, 54(16): 4890 - 4894.
- [63] Wu X M, Sun X R, Guo Z Q, et al. In Vivo and in Situ Tracking Cancer Chemotherapy by Highly Photostable NIR Fluorescent Theranostic Prodrug [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2014, 136(9): 3579 - 3588.
- [64] Lou X D, Zhang Y, Li Q Q, et al. A highly specific rhodamine-based colorimetric probe for hypochlorites: a new sensing strategy and real application in tap water[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(11): 3189 - 3191.
- [65] Yu F B, Li P, Song P, Wang B S, et al. Facilitative functionalization of cyanine dye by an on-off-on fluorescent switch for imaging of H_2O_2 oxidative stress and thiols reducing repair in cells and tissues[J]. *Chemical Communications*. 2012, 48(41): 4980 - 4982.
- [66] Jonnalagadda S B, Pare B K. Oxidation of Toluidine Blue by Chlorite in Acid and Mechanisms of the Uncatalyzed and Ru (III) - Catalyzed Reactions: A Kinetic Approach[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2010, 114(46): 12162 - 12167.
- [67] Yang L, Li X, Yang J B, et al. Colorimetric and Ratiometric Near-Infrared Fluorescent Cyanide Chemodosimeter Based on Phenazine Derivatives [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2013, 5(4): 1317 - 1326.
- [68] Yang L, Li X, Qu Y, et al. Red turn-on fluorescent phenazine-cyanine chemodosimeters for cyanide anion in aqueous solution and its application for cell imaging[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*. 2014, 203: 833 - 847.
- [69] Xu Z C, Xiao Y, Qian X H, et al. Ratiometric and Selective Fluorescent Sensor for Cu(II) Based on Internal Charge Transfer (ICT)[J]. *Organic Letters*. 2005, 7(5): 889 - 92.
- [70] Xu Z C, Qian X H, Cui J A, et al. Exploiting the deprotonation mechanism for the design of ratiometric and colorimetric Zn^{2+} fluorescent chemosensor with a large red-shift in emission[J]. *Tetrahedron*. 2006, 62(43): 10117 - 10122.
- [71] Zhang J F, Lim C S, Bhuniya S, et al. A Highly Selective Colorimetric and Ratiometric Two-Photon Fluorescent Probe for Fluoride Ion Detection[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(5): 1190 - 1193.
- [72] Jiang J, Liu W, Cheng J, et al. A sensitive colorimetric and ratiometric fluorescent probe for mercury species in aqueous solution and living cells [J]. *Chemical Communications*. 2012, 48(67): 8371 - 8373.
- [73] Cui L, Zhong Y, Zhu W, et al. A New Prodrug-Derived Ratiometric Fluorescent Probe for Hypoxia: High Selectivity of Nitroreductase and Imaging in Tumor Cell[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(5): 928 - 31.
- [74] Liu B, Tian H. A selective fluorescent ratiometric chemodosimeter for mercury ion [J]. *Chemical Communications*. 2005(25): 3156 - 3158.
- [75] Zhu B C, Zhang X L, Li Y M, et al. A colorimetric and ratiometric fluorescent probe

- for thiols and its bioimaging applications[J]. Chemical Communications. 2010, 46 (31): 5710 – 5712.
- [76] Koreff R. Ueber einige Abkömmlinge des β - Naphtochinons [J]. Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft. 1886, 19(1): 176.
- [77] Takezawa K, Tsunoda M, Murayama K, et al. Automatic semi-microcolumn liquid chromatographic determination of catecholamines in rat plasma utilizing peroxyoxalate chemiluminescence reaction[J]. Analyst. 2000, 125(2): 293 – 296.
- [78] Wang L, Zhang Y Y, Wang L, et al. Benzofurazan derivatives as antifungal agents against phytopathogenic fungi[J]. European Journal of Medicinal Chemistry. 2014, 80: 535 – 542.
- [79] Kim H J, Ko K C, Lee J H, et al. KCN sensor: unique chromogenic and ‘turn-on’ fluorescent chemodosimeter: rapid response and high selectivity [J]. Chemical Communications. 2011, 47(10): 2886 – 2888.
- [80] Lee K S, Lee J T, Hong J I, et al. Visual Detection of Cyanide through Intramolecular Hydrogen Bond[J]. Chemistry Letters. 2007, 36(6): 816 – 817.
- [81] Bera M K, Chakraborty C, Singh P K, et al. Fluorene-based chemodosimeter for “turn-on” sensing of cyanide by hampering ESIPT and live cell imaging[J]. Journal of Materials Chemistry. 2014, 2(29): 4733 – 4739.
- [82] Niamnont N, Khumsri A, Promchat A, et al. Novel salicylaldehyde derivatives as fluorescence turn-on sensors for cyanide ion[J]. Journal of Hazardous Materials. 2014, 280: 458 – 463.
- [83] Dvivedi A, Rajakannu P, Ravikanth M. meso-Salicylaldehyde substituted BODIPY as a chemodosimetric sensor for cyanide anions[J]. Dalton transactions. 2015, 44(9): 4054 – 4062.
- [84] Goswami S, Manna A, Paul S, et al. Resonance-assisted hydrogen bonding induced nucleophilic addition to hamper ESIPT: ratiometric detection of cyanide in aqueous media[J]. Chemical Communications. 2013, 49(28): 2912 – 2914.
- [85] Li K, Qin W, Ding D, et al. Photostable fluorescent organic dots with aggregation-induced emission (AIE dots) for noninvasive long-term cell tracing [J]. Scientific Reports. 2013, 3(1): 1150.
- [86] Tang B Z, Zhan X, Gui Y, et al. Efficient blue emission from siloles[J]. Journal of Materials Chemistry. 2001, 11(12): 2974 – 2978.
- [87] Zeng Q, Li Z, Dong Y, et al. Fluorescence enhancements of benzene-cored luminophors by restricted intramolecular rotations: AIE and AIEE effects [J]. Chemical Communications. 2007(1): 70 – 72.
- [88] Liu L, Zhang G, Xiang J, Zhang D, Zhu D. Fluorescence “Turn On” Chemosensors for Ag^+ and Hg^{2+} Based on Tetraphenylethylene Motif Featuring Adenine and Thymine Moieties[J]. Organic Letters. 2008, 10(20): 4581 – 4584.
- [89] Hong Y, Feng C, Yu Y, et al. Quantitation, Visualization, and Monitoring of Conformational Transitions of Human Serum Albumin by a Tetraphenylethene Derivative with Aggregation-Induced Emission Characteristics [J]. Analytical

- Chemistry. 2010, 82(16): 7035 – 7043.
- [90] Park S, Kim H J. Highly activated Michael acceptor by an intramolecular hydrogen bond as a fluorescence turn-on probe for cyanide[J]. Chemical Communications. 2010, 46(48): 9197 – 9199.
- [91] Sun Y, Wang Y, Cao D, et al. 3 - Amidocoumarins as chemodosimeters to trap cyanide through both Michael and intramolecular cyclization reaction[J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2012, 174: 500 – 505.
- [92] Lee H, Kim H J. Highly selective sensing of cyanide by a benzochromene-based ratiometric fluorescence probe[J]. Tetrahedron Letters. 2012, 53(40): 5455 – 5457.
- [93] Kim C Y, Park S, Kim H-J. Indocyanine based dual optical probe for cyanide in HEPES buffer[J]. Dyes & Pigments. 2016, 130: 251 – 255.
- [94] Li J, Wei W, Qi X, et al. Highly selective colorimetric/fluorometric dual-channel sensor for cyanide based on ICT off in aqueous solution[J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2016, 228: 330 – 334.
- [95] Li J, Qi X, Wei W, Zuo G, Wei D. A red-emitting fluorescent and colorimetric dual-channel sensor for cyanide based on a hybrid naphthopyran-benzothiazol in aqueous solution[J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2016, 232: 666 – 672.
- [96] Cheng G, Fan J, Sun W, et al. A highly specific BODIPY-based probe localized in mitochondria for HClO imaging[J]. Analyst. 2013, 138(20): 6091 – 6096.
- [97] Goswami S, Paul S, Manna A. Carbazole based hemicyanine dye for both “naked eye” and ‘NIR’ fluorescence detection of CN⁻ in aqueous solution: From molecules to low cost devices (TLC plate sticks)[J]. Dalton transactions. 2013, 42(30): 10682 – 10683.
- [98] Yang Y, Yin C, Huo F, et al. A new highly selective and turn-on fluorescence probe for detection of cyanide[J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2014, 193(31): 220 – 224.
- [99] Sun M, Wang S, Yang Q, et al. A new colorimetric fluorescent sensor for ratiometric detection of cyanide in solution, test strips, and in cells[J]. RSC Advances. 2014, 4(16): 8295 – 8299.
- [100] Chen Z, Sun M, Yan C, et al. A new colorimetric and fluorescent chemodosimeter for fast detection of cyanide[J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2014, 203: 382 – 387.
- [101] Mahapatra A K, Maiti K, Maji R, et al. Ratiometric fluorescent and chromogenic chemodosimeter for cyanide detection in water and its application in bioimaging[J]. RSC Advances. 2015, 5(31): 24274 – 24280.
- [102] Mahapatra A K, Maiti K, Manna S K, et al. Unique Fluorogenic Ratiometric Fluorescent Chemodosimeter for Rapid Sensing of CN in Water[J]. Chemistry-An Asian Journal. 2014, 9(12): 3623 – 3632.
- [103] Huo F, Kang J, Yin C, et al. A turn on fluorescent sensor for cyanide based on ICT off in aqueous and its application for bioimaging [J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2015, 215: 93 – 98.

- <<<< -----
- [104] Yue S, Fan S, Lian D, et al. A ratiometric fluorescent probe based on benzo [e] indolium for cyanide ion in water[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*. 2013, 185: 638 – 643.
- [105] Goswami S, Manna A, Paul S, et al. Highly reactive (<1 min) ratiometric probe for selective ‘naked-eye’ detection of cyanide in aqueous media[J]. *Tetrahedron Letters*. 2013, 54(14): 1785 – 1789.
- [106] Lee J H, Jeong A R, Shin I S, et al. Fluorescence Turn-On Sensor for Cyanide Based on a Cobalt(II)Coumarinylsalen Complex[J]. *Organic Letters*. 2010, 12(4): 764 – 767.
- [107] Zou Q, Li X, Zhang J, et al. Unsymmetrical diarylethenes as molecular keypad locks with tunable photochromism and fluorescence via Cu^{2+} and CN^- coordinations [J]. *Chemical Communications*. 2012, 48(15): 2095 – 2097.
- [108] Liu Y, Lv X, Zhao Y, et al. A Cu(II) – based chemosensing ensemble bearing rhodamine B fluorophore for fluorescence turn-on detection of cyanide[J]. *Journal of Materials Chemistry*. 2012, 22(5): 1747 – 1750.
- [109] Chen X, Nam S W, Kim G H, et al. A near-infrared fluorescent sensor for detection of cyanide in aqueous solution and its application for bioimaging [J]. *Chemical Communications*. 2010, 46(47): 8953 – 8955.
- [110] Yang Y K, Tae J. Acridinium Salt Based Fluorescent and Colorimetric Chemosensor for the Detection of Cyanide in Water[J]. *Organic Letters*. 2006, 8(25): 5721 – 5723.
- [111] Kaur P, Sareen D, Kaur S, et al. An efficacious “naked-eye” selective sensing of cyanide from aqueous solutions using a triarylmethane leuconitrile[J]. *Inorganic Chemistry Communications*. 2009, 12(3): 272 – 275.
- [112] Afkhami A, Sarlak N. A novel cyanide sensing phase based on immobilization of methyl violet on a triacetylcellulose membrane[J]. *Sensors & Actuators B*. 2007, 122(2): 437 – 441.
- [113] Nicoletti C R, Nandi L G, Machado V G. Chromogenic Chemodosimeter for Highly Selective Detection of Cyanide in Water and Blood Plasma Based on Si-O Cleavage in the Micellar System[J]. *Analytical Chemistry*. 2015, 87(1): 362 – 366.
- [114] Ajayaghosh A, Carol P, Sreejith S. A Ratiometric Fluorescence Probe for Selective Visual Sensing of Zn^{2+} [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2005, 127(43): 14962 – 14963.
- [115] Yamaguchi S, Akiyama S, Tamao K. Colorimetric Fluoride Ion Sensing by Boron-Containing π – Electron Systems[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2001, 123(46): 11372 – 11375.
- [116] Zhu B, Jia H, Zhang X, et al. Engineering a subcellular targetable, red-emitting, and ratiometric fluorescent probe for Ca^{2+} and its bioimaging applications [J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*. 2010, 397(3): 1245 – 1250.
- [117] Xu G, Tarr M A. A novel fluoride sensor based on fluorescence enhancement[J]. *Chemical Communications*. 2004(9): 1050 – 1051.

- [118] Jiang P, Chen L, Lin J, et al. Novel Zinc Fluorescent Probe Bearing Dansyl and Aminoquinoline Groups[J]. *Cheminform.* 2002, 33(44): 1424 – 1425.
- [119] Tang B, Huang H, Xu K, et al. Highly sensitive and selective near-infrared fluorescent probe for zinc and its application to macrophage cells[J]. *Chemical Communications.* 2006(34): 3609 – 3611.
- [120] Komatsu K, Urano Y, Kojima H, et al. Development of an Iminocoumarin-Based Zinc Sensor Suitable for Ratiometric Fluorescence Imaging of Neuronal Zinc[J]. *Journal of the American Chemical Society.* 2007, 129(44): 13447 – 13454.
- [121] Koide Y, Urano Y, Hanaoka K, et al. Development of an Si-Rhodamine-Based Far-Red to Near-Infrared Fluorescence Probe Selective for Hypochlorous Acid and Its Applications for Biological Imaging[J]. *Journal of the American Chemical Society.* 2011, 133(15): 5680 – 5682.
- [122] Zhang H, Qu Y, Gao Y, et al. A red fluorescent ‘turn-on’ chemosensor for Hg^{2+} based on triphenylamine-triazines derivatives with aggregation-induced emission characteristic[J]. *Tetrahedron Letters.* 2013, 54(8): 909 – 912.
- [123] Tong H, Dong Y, Häussler M, et al. Tunable aggregation-induced emission of diphenyldibenzofulvenes[J]. *Chemical Communications.* 2006(10): 1133 – 1135.
- [124] Dong Y, Lam J W Y, Qin A, et al. Switching the light emission of (4 – biphenyl) phenyldibenzofulvene by morphological modulation: crystallization-induced emission enhancement[J]. *Chemical Communications.* 2007(1): 40 – 42.
- [125] Ning Z, Zhao C, Zhang Q, et al. Aggregation-Induced Emission (AIE) – active Starburst Triarylamine Fluorophores as Potential Non-doped Red Emitters for Organic Light-Emitting Diodes and Cl_2 Gas Chemodosimeter [J]. *Advanced Functional Materials.* 2007, 17(18): 3799 – 3807.
- [126] Dong Y, Lam J W Y, Qin A, et al. Endowing hexaphenylsilole with chemical sensory and biological probing properties by attaching amino pendants to the silolyl core[J]. *Chemical Physics Letters.* 2007, 446(1 – 3): 124 – 127.
- [127] Hang Y, Yang L, Qu Y, et al. A new diketopyrrolopyrrole-based near-infrared (NIR) fluorescent biosensor for BSA detection and AIE-assisted bioimaging[J]. *Tetrahedron Letters.* 2014, 55(51): 6998 – 7001.
- [128] Gogoi A, Mukherjee S, Ramesh A, et al. AIE Active Metal-Free Chemosensing Platform for Highly Selective Turn-ON Sensing and Bioimaging of Pyrophosphate Anion[J]. *Analytical Chemistry.* 2015, 87(13): 6974 – 6979.
- [129] Xu Q, Lee K A, Lee S, et al. A Highly Specific Fluorescent Probe for Hypochlorous Acid and Its Application in Imaging Microbe-Induced HOCl Production[J]. *Journal of the American Chemical Society.* 2013, 135(26): 9944 – 9949.
- [130] Yuan L, Wang L, Agrawalla B K, et al. Development of Targetable Two-Photon Fluorescent Probes to Image Hypochlorous Acid in Mitochondria and Lysosome in Live Cell and Inflamed Mouse Model[J]. *Journal of the American Chemical Society.* 2015, 137(18): 5930 – 5938.

- <<<< -----
- [131] Chang M C Y, Pralle A, Isacoff E Y, et al. A Selective, Cell-Permeable Optical Probe for Hydrogen Peroxide in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, 126(47): 15392 – 15393.
- [132] Dickinson B C, Chang C J. A Targetable Fluorescent Probe for Imaging Hydrogen Peroxide in the Mitochondria of Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2008, 130(34): 11561.
- [133] Srikun D, Miller E W, Domaille D W, et al. An ICT-Based Approach to Ratiometric Fluorescence Imaging of Hydrogen Peroxide Produced in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2008, 130(14): 4596 – 4597.
- [134] Chung C, Srikun D, Lim C S, et al. A two-photon fluorescent probe for ratiometric imaging of hydrogen peroxide in live tissue[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(34): 9618 – 9620.
- [135] Karton-Lifshin N, Segal E, Omer L, et al. A Unique Paradigm for a Turn-ON Near-Infrared Cyanine-Based Probe: Noninvasive Intravital Optical Imaging of Hydrogen Peroxide[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2011, 133(28): 10960 – 10965.
- [136] Xu K, Tang B, Huang H, et al. Strong Red Fluorescent Probes Suitable for Detecting Hydrogen Peroxide Generated by Mice Peritoneal Macrophages [J]. *Chemical Communications*. 2006, 37(48): 5974 – 5976.
- [137] Xu K, Wang L, Qiang M, et al. A selective near-infrared fluorescent probe for singlet oxygen in living cells[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(26): 7386 – 7388.
- [138] Zhao H, Joseph J, Fales H M, et al. Detection and characterization of the product of hydroethidine and intracellular superoxide by HPLC and limitations of fluorescence [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005, 102(16): 5727 – 5732.
- [139] Hu X, Wang J, Zhu X, et al. A copper(II) rhodamine complex with a tripodal ligand as a highly selective fluorescence imaging agent for nitric oxide[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(41): 11507 – 11509.
- [140] Yang D, Wang H L, Sun Z N, et al. A Highly Selective Fluorescent Probe for the Detection and Imaging of Peroxynitrite in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(18): 6004 – 6005.
- [141] Choi M G, Hwang J, Eor S, et al. Chromogenic and Fluorogenic Signaling of Sulfite by Selective Deprotection of Resorufin Levulinate[J]. *Organic Letters*. 2010, 12(24): 5624 – 5627.
- [142] Chen X, Ko S K, Min J K, et al. A thiol-specific fluorescent probe and its application for bioimaging[J]. *Chemical Communications*. 2010, 46(16): 2751 – 2753.
- [143] Cao X, Lin W, Yu Q. A Ratiometric Fluorescent Probe for Thiols Based on a Tetrakis(4 - hydroxyphenyl) porphyrin-Coumarin Scaffold[J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2011, 76(18): 7423 – 7430.
- [144] Zhang M, Yu M, Li F, et al. A Highly Selective Fluorescence Turn-on Sensor for

- Cysteine/Homocysteine and Its Application in Bioimaging[J]. Journal of the American Chemical Society. 2007, 129(34): 10322 – 10323.
- [145] Jung H S, Ko K C, Kim G-H, et al. Coumarin-Based Thiol Chemosensor: Synthesis, Turn-On Mechanism, and Its Biological Application[J]. Organic Letters. 2011, 13(6): 1498 – 1501.
- [146] Sun Y Q, Chen M, Liu J, et al. Nitroolefin-based coumarin as a colorimetric and fluorescent dual probe for biothiols[J]. Chemical Communications. 2011, 47(39): 11029 – 11031.
- [147] Ekmekci Z, Yilmaz M D, Akkaya E U. A Monostyryl-boradiazaindacene (BODIPY) Derivative as Colorimetric and Fluorescent Probe for Cyanide Ions[J]. Organic Letters. 2008, 10(3): 461 – 464.
- [148] Sukato R, Sangpetch N, Palaga T, et al. New turn-on fluorescent and colorimetric probe for cyanide detection based on BODIPY-salicylaldehyde and its application in cell imaging[J]. Journal of Hazardous Materials. 2016, 314: 277 – 285.
- [149] Kwon S K, Kou S, Kim H N, et al. Sensing cyanide ion via fluorescent change and its application to the microfluidic system[J]. Tetrahedron Letters. 2008, 49(26): 4102 – 4105.
- [150] Pati P B, Zade S S. Selective Colorimetric and “Turn-on” Fluorimetric Detection of Cyanide Using a Chemodosimeter Comprising Salicylaldehyde and Triphenylamine Groups[J]. European Journal of Organic Chemistry. 2012, 2012(33): 6555 – 6561.
- [151] Bozdemir O A, Sozmen F, Buyukcakil O, et al. Reaction-Based Sensing of Fluoride Ions Using Built-In Triggers for Intramolecular Charge Transfer and Photoinduced Electron Transfer[J]. Organic Letters. 2010, 12(7): 1400 – 1403.
- [152] Hu R, Feng J, Hu D, et al. A Rapid Aqueous Fluoride Ion Sensor with Dual Output Modes[J]. Angewandte Chemie International Edition. 2010, 122(29): 5035 – 5038.
- [153] Lawrence N S, Davis J, Compton R G. Analytical strategies for the detection of sulfide: a review[J]. Talanta. 2000, 52(5): 771 – 784.
- [154] Jiang W, Fu Q, Fan H, et al. A Highly Selective Fluorescent Probe for Thiophenols[J]. Angewandte Chemie International Edition. 2007, 46(44): 8445 – 8448.
- [155] Frenette M, Hatamimoslehabadi M, Bellinger-Buckley S, et al. Shining Light on the Dark Side of Imaging: Excited State Absorption Enhancement of a Bis-styryl BODIPY Photoacoustic Contrast Agent[J]. Journal of the American Chemical Society. 2014, 136(45): 15853 – 15856.
- [156] Liu H-W, Zhang X-B, Zhang J, et al. Efficient Two-Photon Fluorescent Probe with Red Emission for Imaging of Thiophenols in Living Cells and Tissues[J]. Analytical Chemistry. 2015, 87(17): 8896 – 8903.
- [157] Jiang W, Cao Y, Liu Y, et al. Rational design of a highly selective and sensitive fluorescent PET probe for discrimination of thiophenols and aliphatic thiols[J]. Chemical Communications. 2010, 46(11): 1944 – 1946.
- [158] Shao X, Kang R, Zhang Y, et al. Highly Selective and Sensitive 1 - Amino BODIPY-Based Red Fluorescent Probe for Thiophenols with High Off-to-On

- Contrast Ratio[J]. Analytical Chemistry. 2014, 87(1): 399 – 405.
- [159] Yu D, Huang F, Ding S, et al. Near-Infrared Fluorescent Probe for Detection of Thiophenols in Water Samples and Living Cells[J]. Analytical Chemistry. 2014, 86(17): 8835 – 8841.
- [160] Kand D, Mishra P K, Saha T, et al. BODIPY based colorimetric fluorescent probe for selective thiophenol detection: theoretical and experimental studies[J]. Analyst. 2012, 137(17): 3921 – 3924.
- [161] Wang Z, Han D M, Jia W P, et al. Reaction-Based Fluorescent Probe for Selective Discrimination of Thiophenols over Aliphatic thiols and Its Application in Water Samples[J]. Analytical Chemistry. 2012, 84(11): 4915 – 4920.
- [162] Blanco R, Gómez R, Seoane C, et al. An Ambipolar Peryleneamidine Monoimide-Fused Polythiophene with Narrow Band Gap[J]. Organic Letters. 2007, 9(11): 2171 – 2174.
- [163] Gu X, Liu C, Zhu Y C, Zhu Y Z. A Boron-dipyrromethene-Based Fluorescent Probe for Colorimetric and Ratiometric Detection of Sulfite[J]. Journal of agricultural and food chemistry. 2011, 59(22): 11935 – 11939.
- [164] Corsaro A, Pistarà V. Conversion of the thiocarbonyl group into the carbonyl group [J]. Tetrahedron. 1998, 54(50): 15027 – 15062.
- [165] Boeglin D, Cantel S, Heitz A, et al. Solution and Solid-Supported Synthesis of 3, 4, 5 - Trisubstituted 1, 2, 4 - Triazole-Based Peptidomimetics[J]. Organic Letters. 2003, 5(23): 4465 – 4468.
- [166] Wang X, Zheng L, Wei B, et al. Synthesis of 2 - (4 - Methoxyphenyl oxyacetyl-amido) - 5 - aryloxymethyl - 1, 3, 4 - oxadiazoles under Microwave Irradiation[J]. Synthetic Communications. 2002, 32(7): 1097 – 1103.
- [167] Hintermann L, Labonne A. Catalytic Hydration of Alkynes and Its Application in Synthesis[J]. Synthesis 2007, 8: 1121 – 1150.
- [168] Niu SL, Ulrich G, Ziessel R, et al. Water-Soluble BODIPY Derivatives[J]. Organic Letters. 2009, 11(10): 2049 – 2052.
- [169] Chae M, Czarnik A W. Fluorometric chemodosimetry. Mercury(II) and silver(I) indication in water via enhanced fluorescence signaling[J]. Journal of the American Chemical Society. 1992, 114(24): 9704 – 9705.
- [170] Zhang G, Zhang D, Yin S, et al. 1,3 - Dithiole - 2 - thione derivatives featuring an anthracene unit: new selective chemodosimeters for Hg (ii) ion [J]. Chemical Communications. 2005(16): 2161 – 2163.
- [171] José VR-L, Marcos M D, Martínez-Máñez R, et al. A Regenerative Chemodosimeter Based on Metal-Induced Dye Formation for the Highly Selective and Sensitive Optical Determination of Hg²⁺ Ions[J]. Angewandte Chemie International Edition. 2005, 44(28): 4405 – 4407.
- [172] Cheng Y F, Zhao D T, Zhang M, et al. Azo 8 - hydroxyquinoline benzoate as selective chromogenic chemosensor for Hg²⁺ and Cu²⁺ [J]. Tetrahedron Letters. 2006, 47(36): 6413 – 6416.

- [173] Song K, Kim J, Park S, et al. Fluorogenic Hg^{2+} - selective chemodosimeter derived from 8 - hydroxyquinoline[J]. Organic Letters. 2006, 8(16): 3413 - 3416.
- [174] Wu J S, Hwang I C, Kim K S, et al. Rhodamine-Based Hg^{2+} - Selective Chemodosimeter in Aqueous Solution: Fluorescent OFF-ON[J]. Organic Letters. 2007, 9(5): 907 - 910.
- [175] Lee M H, Cho B K, Yoon J, et al. Selectively Chemodosimetric Detection of Hg(II) in Aqueous Media[J]. Organic Letters. 2007, 9(22): 4515 - 4518.
- [176] Santra M, Ryu D, Chatterjee A, et al. A chemodosimeter approach to fluorescent sensing and imaging of inorganic and methylmercury species [J]. Chemical Communications. 2009(16): 2115 - 2117.
- [177] Kaur P, Sareen D, Singh K. Selective colorimetric sensing of Cu^{2+} using triazolyl monoazo derivative[J]. Talanta. 2011, 83(5): 1695 - 1700.
- [178] Ong T-G, Yap G P A, Richeson D S. Catalytic Construction and Reconstruction of Guanidines; Ti-Mediated Guanylation of Amines and Transamination of Guanidines [J]. Journal of the American Chemical Society. 2003, 125(27): 8100 - 8101.
- [179] Lee M H, Lee S W, Kim S H, et al. Nanomolar Hg(II) Detection Using Nile Blue Chemodosimeter in Biological Media[J]. Organic Letters. 2009, 11(10): 2101 - 2104.
- [180] Yuan L, Lin W, Chen B, et al. Development of FRET-Based Ratiometric Fluorescent Cu^{2+} Chemodosimeters and the Applications for Living Cell Imaging[J]. Organic Letters. 2012, 14(2): 432 - 435.
- [181] Qi J, Han M S, Tung C H. A benzothiazole alkyne fluorescent sensor for Cu detection in living cell[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2012, 22(4): 1747 - 1749.
- [182] Lin W, Long L, Chen B, et al. Fluorescence turn-on detection of Cu(2+) in water samples and living cells based on the unprecedented copper-mediated dihydrosamine oxidation reaction[J]. Chemical Communications. 2010, 46(8): 1311 - 1313.
- [183] Wang R, Yu F, Liu P, et al. A turn-on fluorescent probe based on hydroxylamine oxidation for detecting ferric ion selectively in living cells [J]. Chemical Communications. 2012, 48(43): 5310 - 5312.
- [184] Chatterjee A, Santra M, Won N, et al. Selective Fluorogenic and Chromogenic Probe for Detection of Silver Ions and Silver Nanoparticles in Aqueous Media[J]. Journal of the American Chemical Society. 2009, 131(6): 2040 - 2041.
- [185] Garner A L, Song F, Koide K. Enhancement of a Catalysis-Based Fluorometric Detection Method for Palladium through Rational Fine-Tuning of the Palladium Species[J]. Journal of the American Chemical Society. 2009, 131(14): 5163 - 5171.
- [186] Qian F, Zhang C, Zhang Y, et al. Visible Light Excitable Zn^{2+} Fluorescent Sensor Derived from an Intramolecular Charge Transfer Fluorophore and Its in Vitro and in Vivo Application[J]. Journal of the American Chemical Society. 2009, 131(4): 1460 - 1468.

- <<<< -----
- [187] Lee P K, Law H T, Liu H W, et al. Luminescent Cyclometalated Iridium(III) Polypyridine Di - 2 - picolylamine Complexes; Synthesis, Photophysics, Electrochemistry, Cation Binding, Cellular Internalization, and Cytotoxic Activity [J]. *Inorganic Chemistry*. 2011, 50(17): 8570 - 8579.
- [188] Pratihar P, Mondal T K, Patra A K, et al. trans-Dichloro-bis-(arylaazoimidazole) palladium(II): Synthesis, Structure, Photoisomerization, and DFT Calculation[J]. *Inorganic Chemistry*. 2009, 48(7): 2760 - 2769.
- [189] Taku H, Imahori H, Kamat P V, et al. Quaternary Self-Organization of Porphyrin and Fullerene Units by Clusterization with Gold Nanoparticles on SnO₂ Electrodes for Organic Solar Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2003, 125 (49): 14962 - 14963.
- [190] Vedamalai M, Wu S P. A BODIPY-Based Highly Selective Fluorescent Chemosensor for Hg²⁺ Ions and Its Application in Living Cell Imaging[J]. *European Journal of Organic Chemistry*. 2012, 2012(6): 1158 - 1163.
- [191] Brisbois E J, Davis R P, Jones A M, et al. Reduction in thrombosis and bacterial adhesion with 7 day implantation of S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)-doped Elast-eon E2As catheters in sheep[J]. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015, 3 (8): 1639 - 1645.
- [192] Youming Z, Bingbing S, Peng Z, et al. A highly selective dual-channel Hg²⁺ chemosensor based on an easy to prepare double naphthalene Schiff base[J]. *Science China Chemistry*. 2013, 056(5): 612 - 618.
- [193] Ding L, Wu M, Li Y, et al. New fluoro- and chromogenic chemosensors for the dual-channel detection of Hg²⁺ and F⁻ [J]. *Tetrahedron Letters*. 2014, 55(34): 4711 - 4715.
- [194] Knake R, Jacquinet P, Hodgson A W E, et al. Amperometric sensing in the gas-phase[J]. *Analytica Chimica Acta*. 2005, 549(1 - 2): 1 - 9.
- [195] Li W, Ye Y, Yuan S, et al. Hierarchical nanocomposites of Co₃O₄/polyaniline nanowire arrays/reduced graphene oxide sheets for amino acid detection[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*. 2014, 203(1): 864 - 872.
- [196] Azadbakht R, Almasi T, Keypour H, et al. A new asymmetric Schiff base system as fluorescent chemosensor for Al³⁺ ion[J]. *Inorganic Chemistry Communications*. 2013, 33: 63 - 67.
- [197] Alici O, Erdemir S. A cyanobiphenyl containing fluorescence “turn on” sensor for Al (3+) ion in CH₃CN-water[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*. 2015, 208: 159 - 163.
- [198] Dincă M, Yu A F, Long J R. Microporous Metal-Organic Frameworks Incorporating 1,4 - Benzeneditetrazolate: Syntheses, Structures, and Hydrogen Storage Properties [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(27): 8904 - 8913.
- [199] Rurack K, Kollmannsberger M, Resch-Genger U, et al. A Selective and Sensitive Fluoroionophore for Hg^{II}, Ag^I, and Cu^{II} with Virtually Decoupled Fluorophore and

- Receptor Units[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2000, 122(5): 968 – 969.
- [200] Baruah M, Qin W, A. L. Vallee R, et al. A Highly Potassium-Selective Ratiometric Fluorescent Indicator Based on BODIPY Azacrown Ether Excitable with Visible Light[J]. *Organic Letters*. 2005, 7(20): 4377 – 4380.
- [201] Atilgan S, Ozdemir T, Akkaya E U. Selective Hg(II) sensing with improved stokes shift by coupling the internal charge transfer process to excitation energy transfer [J]. *Organic Letters*. 2010, 12(21): 4792 – 4795.
- [202] Bozdemir O A, Guliyev R, Buyukcakil O, et al. Selective manipulation of ICT and PET processes in styryl-bodipy derivatives: Applications in molecular logic and fluorescence sensing of metal ions[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(23): 8029 – 8036.
- [203] Rurack K, Bricks J L, Schulz B, et al. Substituted 1,5 – Diphenyl – 3 – benzothiazol – 2 – yl – Δ^2 – pyrazolines: Synthesis, X-ray Structure, Photophysics, and Cation Complexation Properties[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2000, 104(26): 6171 – 6188.
- [204] Yoon S, Albers A E, Wong A P, et al. Screening Mercury Levels in Fish with a Selective Fluorescent Chemosensor[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2005, 127(46): 16030 – 16031.
- [205] Vaidya B, Zak J, Bastiaans G J, et al. Chromogenic and Fluorogenic Crown Ether Compounds for the Selective Extraction and Determination of Hg(II)[J]. *Analytical Chemistry*. 1995, 67(22): 4101 – 4111.
- [206] Prodi L, Bargossi C, Montalti M, et al. An Effective Fluorescent Chemosensor for Mercury Ions[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2000, 122(28): 6769 – 6770.
- [207] Prodi L, Montalti M, Zaccheroni N, et al. Characterization of 5 – chloro – 8 – methoxyquinoline appended diaza – 18 – crown – 6 as a chemosensor for cadmium[J]. *Tetrahedron Letters*. 2001, 42(16): 2941 – 2944.
- [208] Sancenón F, Martínez-Máñez R, Soto J. 1,3,5 – Triarylpent – 2 – en – 1,5 – diones for the colorimetric sensing of the mercuric cation[J]. *Chemical Communications*. 2001(21): 2262 – 2263.
- [209] Padilla-Tosta Miguel E, Lloris J M, Martínez cmáñez R, et al. Fluorescent Chemosensors for Heavy Metal Ions Based on Bis (terpyridyl) Ruthenium (II) Complexes Containing Aza má xa and Polyaza Macrocycles[J]. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2001, 2001(6): 1475 – 1482.
- [210] Cheng T, Xu Y, Zhang S, et al. A Highly Sensitive and Selective OFF-ON Fluorescent Sensor for Cadmium in Aqueous Solution and Living Cell[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2008, 130(48): 16160 – 16161.
- [211] Li Y P, Liu X M, Zhang Y H, et al. A fluorescent and colorimetric sensor for Al^{3+} based on a dibenzo – 18 – crown – 6 derivative [J]. *Inorganic Chemistry Communications*. 2013, 33: 6 – 9.

- <<<< -----
- [212] Qin W, Baruah M, Sliwa M, et al. Ratiometric, Fluorescent BODIPY Dye with Aza Crown Ether Functionality: Synthesis, Solvatochromism, and Metal Ion Complex Formation[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2008, 112(27): 6104 – 6114.
- [213] Wang J, Qian X. A series of polyamide receptor based PET fluorescent sensor molecules: Positively cooperative Hg^{2+} ion binding with high sensitivity[J]. *Organic Letters*. 2006, 8(17): 3721 – 3724.
- [214] Ju H K, Hwang A R, Chang S K. Hg^{2+} – selective fluoroionophore of p-tert-butylcalix [4] arene-diaza-crown ether having pyrenylacetamide subunits [J]. *Tetrahedron Letters*. 2004, 45(41): 7557 – 7561.
- [215] Guo X, Qian X, Jia L. A Highly Selective and Sensitive Fluorescent Chemosensor for Hg^{2+} in Neutral Buffer Aqueous Solution[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, 126(8): 2272 – 2273.
- [216] Guo Z, Zhu W, Shen L, et al. A Fluorophore Capable of Crossword Puzzles and Logic Memory[J]. *Angewandte Chemie*. 2010, 46(29): 5549 – 5553.
- [217] Talanova G G, Elkirim N S A, Talanov V S, et al. A Calixarene-Based Fluorogenic Reagent for Selective Mercury(II) Recognition[J]. *Analytical Chemistry*. 1999, 71(15): 3106 – 3109.
- [218] Chen Q Y, Chen C F. A new Hg^{2+} – selective fluorescent sensor based on a dansyl amide – armed calix[4] – aza-crown[J]. *Tetrahedron Letters*. 2005, 46(1): 165 – 168.
- [219] Zhang X B, Guo C C, Li Z Z, et al. An Optical Fiber Chemical Sensor for Mercury Ions Based on a Porphyrin Dimer[J]. *Analytical Chemistry*. 2002, 74(4): 821 – 825.
- [220] Moon S Y, Cha N R, Kim Y H, et al. New Hg^{2+} – selective chromo- and fluoroionophore based upon 8 – hydroxyquinoline[J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2004, 69(1): 181 – 183.
- [221] Zhang H, Han L F, Zachariasse K A, et al. 8 – Hydroxyquinoline benzoates as highly sensitive fluorescent chemosensors for transition metal ions [J]. *Organic Letters*. 2005, 7(19): 4217 – 4220.
- [222] Wang D, Shiraishi Y, Hirai T. A BODIPY-based fluorescent chemodosimeter for Cu (ii) driven by an oxidative dehydrogenation mechanism [J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(9): 2673 – 2075.
- [223] Tian H, Li B, Wang H, et al. A nanocontainer that releases a fluorescence sensor for cadmium ions in water and its biological applications[J]. *Journal of Materials Chemistry*. 2011, 21(28): 10298 – 10303.
- [224] Zhou D, Sun C, Chen C, et al. Research of a highly selective fluorescent chemosensor for aluminum(III) ions based on photoinduced electron transfer[J]. *Journal of Molecular Structure*. 2015, 1079: 315 – 320.
- [225] Sun Z N, Liu F Q, Chen Y, et al. A Highly Specific BODIPY-Based Fluorescent Probe for the Detection of Hypochlorous Acid[J]. *Organic Letters*. 2008, 10(11): 2171 – 2174.

- [226] Ashok Kumar S L, Tamilarasan R, Kumar M S, et al. Bisthiocarbonylhydrazones as Colorimetric and “Turn on” Fluorescent Chemosensors for Selective Recognition of Fluoride[J]. *Indengchemres*. 2011, 50(22): 12379 – 12383.
- [227] Chen X, Wang H, Jin X, et al. Palladium catalyzed bicyclization of 1, 8 - diodonaphthalene and tertiary propargylic alcohols to phenalenones and their applications as fluorescent chemosensor for fluoride ions [J]. *Chemical Communication*. 2011, 47(9): 2628 – 2630.
- [228] Kim T H, Holmes A B. Synthesis of a conformationally rigid scyllo-inositol polymer as a novel chelating ligand[J]. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions*. 2001, 20(20): 2524 – 2525.
- [229] Filatov M A, Lebedev A Y, Mukhin S N, et al. π - Extended Dipyrins Capable of Highly Fluorogenic Complexation with Metal Ions[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(28): 9552 – 9554.
- [230] Harriman A, Rostron J P, Cesario M, et al. Electron Transfer in Self-Assembled Orthogonal Structures[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2006, 110(26): 7994 – 8002.
- [231] Rosenthal J, Lippard S J. Direct Detection of Nitroxyl in Aqueous Solution Using a Tripodal Copper (II) BODIPY Complex [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(16): 5536 – 5537.
- [232] Au-Yeung H Y, New E J, Chang C J. A selective reaction-based fluorescent probe for detecting cobalt in living cells[J]. *Chemical Communications*. 2012, 48(43): 5268 – 5270.
- [233] Zhang Y, Zhang Z, Yin D, et al. Turn-on Fluorescent InP Nanoprobe for Detection of Cadmium Ions with High Selectivity and Sensitivity[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2013, 5(19): 9709 – 9713.
- [234] Levitt J, Kuimova M, Yahioglu G, et al. Membrane-Bound Molecular Rotors Measure Viscosity in Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging[J]. *Journal of Physical Chemistry C*. 2009, 113(27): 6672 – 6673.
- [235] Alamiry M A H, Benniston A C, Copley G, et al. A Molecular Rotor Based on an Unhindered Boron Dipyrromethene (Bodipy) Dye[J]. *Chemistry of Materials*. 2008, 20(12): 4024 – 4032.
- [236] Liu F, Wu T, Cao J, et al. Ratiometric Detection of Viscosity Using a Two-Photon Fluorescent Sensor[J]. *Chemistry*. 2013, 19(5): 1548 – 1553.
- [237] Wang L, Xiao Y, Tian W, et al. Activatable Rotor for Quantifying Lysosomal Viscosity in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2013, 135(8): 2903 – 2906.
- [238] Kollmannsberger M, Gareis T, Heintz S, et al. Electrogenenerated Chemiluminescence and Proton-Dependent Switching of Fluorescence: Functionalized Difluoroboradiazas-indacenes[J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 2010, 36(12): 1333 – 1335.
- [239] Bura T, Retailleau P, Ulrich G, et al. Highly Substituted Bodipy Dyes with

- Spectroscopic Features Sensitive to the Environment [J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2011, 76(4): 1109 – 1117.
- [240] Ozlem S, Akkaya E U. Thinking Outside the Silicon Box: Molecular AND Logic As an Additional Layer of Selectivity in Singlet Oxygen Generation for Photodynamic Therapy[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2009, 131(1): 48 – 49.
- [241] Descalzo A B, Xu H J, Xue Z L, et al. Phenanthrene-Fused Boron-Dipyrromethenes as Bright Long-Wavelength Fluorophores[J]. *Organic Letters*. 2008, 10(8): 1581 – 1584.
- [242] Wang D, Miyamoto R, Shiraishi Y, et al. BODIPY-Conjugated Thermoresponsive Copolymer as a Fluorescent Thermometer Based on Polymer Microviscosity[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*. 2009, 25(22): 13176 – 13182.
- [243] Pasparakis G, Cockayne A, Alexander C. Control of Bacterial Aggregation by Thermoresponsive Glycopolymers[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2007, 129(36): 11014 – 11015.
- [244] Ke G, Wang C, Yun Ge N Z, et al. L-DNA Molecular Beacon: A Safe, Stable, and Accurate Intracellular Nano-thermometer for Temperature Sensing in Living Cells [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2012, 134(46): 18908 – 18911.
- [245] Matsumoto T, Urano Y, Shoda T, et al. A Thiol-Reactive Fluorescence Probe Based on Donor-Excited Photoinduced Electron Transfer: Key Role of Ortho Substitution[J]. *Organic Letters*. 2007, 9(17): 3375 – 3377.
- [246] Lin W, Long L, Yuan L, et al. A Ratiometric Fluorescent Probe for Cysteine and Homocysteine Displaying a Large Emission Shift[J]. *Organic Letters*. 2008, 10(24): 5577 – 5580.
- [247] Huo F J, Sun Y Q, Su J, et al. Colorimetric Detection of Thiols Using a Chromene Molecule[J]. *Organic Letters*. 2009, 11(21): 4918 – 4921.
- [248] Bi L, Kim D H, Ju J. Design and Synthesis of a Chemically Cleavable Fluorescent Nucleotide, 3'-O-Allyl-dGTP-allyl-Bodipy-FL – 510, as a Reversible Terminator for DNA Sequencing by Synthesis[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(8): 2542 – 2543.
- [249] Ojida A, Sakamoto T, Inoue M A, et al. Fluorescent BODIPY-Based Zn (II) Complex as a Molecular Probe for Selective Detection of Neurofibrillary Tangles in the Brains of Alzheimer's Disease Patients[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2009, 131(18): 6543 – 6548.
- [250] Lee J S, Kang N Y, Yun K K, et al. Synthesis of a BODIPY Library and Its Application to the Development of Live Cell Glucagon Imaging Probe[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2009, 131(29): 10077 – 10082.
- [251] Nierth A, Kobitski A Y, Nienhaus G U, et al. Anthracene-BODIPY Dyads as Fluorescent Sensors for Biocatalytic Diels-Alder Reactions [J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(8): 2646 – 2654.
- [252] Lim S H, Thivierge C, Nowak-Sliwinska P, et al. In Vitro and In Vivo Photocytotoxicity of Boron Dipyrromethene Derivatives for Photodynamic Therapy

- [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010, 53(7): 2865 – 2874.
- [253] Coban O, Burger M, Laliberte M, et al. Ganglioside Partitioning and Aggregation in Phase-Separated Monolayers Characterized by Bodipy GM1 Monomer/Dimer [J] Emission[J]. *Langmuir*. 2007, 23(12): 6704 – 6711.
- [254] Hapuarachchige S, Montano G, Ramesh C, et al. Design and Synthesis of a New Class of Membrane-Permeable Triazaborolopyridinium Fluorescent Probes[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2011, 133(17): 6780 – 6790.
- [255] Li Z, Bittman R. Synthesis and Spectral Properties of Cholesterol- and FTY720 – Containing Boron Dipyrromethene Dyes[J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2007, 72 (22): 8376 – 8382.
- [256] Lee J J, Lee S C, Zhai D, et al. Bodipy-diacrylate imaging probes for targeted proteins inside live cells[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(15): 4508 – 4510.
- [257] Prusty D K, Herrmann A. A Fluorogenic Reaction Based on Heavy-Atom Removal for Ultrasensitive DNA Detection[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(35): 12197 – 12199.
- [258] Young D D, Nichols J, Kelly R M, et al. Microwave Activation of Enzymatic Catalysis[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2008, 130(31): 10048 – 10049.
- [259] Archibald L J, Brown E A, Millard C J, et al. Hydroxamic Acid-Modified Peptide Library Provides Insights into the Molecular Basis for the Substrate Selectivity of HDAC Corepressor Complexes[J]. *ACS Chemical Biology*. 2022, 17(9): 2572 – 2582.
- [260] Dhara K, Hori Y, Baba R, et al. A fluorescent probe for detection of histone deacetylase activity based on aggregation-induced emission [J]. *Chemical Communications*. 2012, 48(94): 11534 – 11536.
- [261] Roiban G D, Agudo R, Ilie A, et al. CH-activating oxidative hydroxylation of 1 – tetralones and related compounds with high regio- and stereoselectivity[J]. *Chemical Communications*. 2014, 50(92): 14310 – 14313.
- [262] Zheng F, Guo S, Zeng F, et al. Ratiometric Fluorescent Probe for Alkaline Phosphatase Based on Betaine-Modified Polyethylenimine via Excimer/Monomer Conversion[J]. *Analytical Chemistry*. 2014, 86(19): 9873 – 9879.
- [263] Gu X, Zhang G, Wang Z, et al. A new fluorometric turn-on assay for alkaline phosphatase and inhibitor screening based on aggregation and deaggregation of tetraphenylethylene molecules[J]. *Analyst*. 2013, 138(8): 2427 – 2431.
- [264] Lippert A R, New E J, Chang C J. Reaction-Based Fluorescent Probes for Selective Imaging of Hydrogen Sulfide in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2011, 133(26): 10078 – 10080.
- [265] Montoya L A, Pluth M D. Selective turn-on fluorescent probes for imaging hydrogen sulfide in living cells[J]. *Guangzhou Chemical Industry*. 2012, 48(39): 4767 – 4769.
- [266] Yu F, Li P, Song P, et al. An ICT-based strategy to a colorimetric and ratiometric

- fluorescence probe for hydrogen sulfide in living cells [J]. Chemical Communications. 2012, 48(23): 2852 – 2854.
- [267] Bae S K, Heo C H, Choi D T, et al. A Ratiometric Two-Photon Fluorescent Probe Reveals Reduction in Mitochondrial H₂S Production in Parkinson's Disease Gene Knockout Astrocytes[J]. Journal of the American Chemical Society. 2013, 135 (26): 9915 – 9923.
- [268] Mao G J, Wei T T, Wang X X, et al. High-Sensitivity Naphthalene-Based Two-Photon Fluorescent Probe Suitable for Direct Bioimaging of H₂S in Living Cells[J]. Analytical Chemistry. 2013, 85(16): 7875 – 7881.
- [269] Qian Y, Karpus J, Kabil O, et al. Selective fluorescent probes for live-cell monitoring of sulphide[J]. Nature Communications. 2011, 2: 495 – 500.
- [270] Chen Y, Zhu C, Yang Z, et al. A Ratiometric Fluorescent Probe for Rapid Detection of Hydrogen Sulfide in Mitochondria[J]. Angewandte Chemie International Edition. 2013, 52(6): 1688 – 1691.
- [271] Wang X, Sun J, Zhang W, et al. A near-infrared ratiometric fluorescent probe for rapid and highly sensitive imaging of endogenous hydrogen sulfide in living cells[J]. Chemical Science. 2013, 4(6): 2551 – 2556.
- [272] Sasakura K, Hanaoka K, Shibuya N, et al. Development of a Highly Selective Fluorescence Probe for Hydrogen Sulfide[J]. Journal of the American Chemical Society. 2011, 133(45): 18003 – 18005.
- [273] Hou F, Cheng J, Xi P, et al. Recognition of copper and hydrogen sulfide in vitro using a fluorescein derivative indicator[J]. Dalton Transactions. 2012, 41(19): 5799 – 5804.
- [274] Choi M G, Cha S, Lee H, et al. Sulfide-selective chemosignaling by a Cu²⁺ complex of dipicolylamine appended fluorescein[J]. Chemical Communications. 2009, 47: 7390 – 7392.
- [275] Wang M Q, Li K, Hou J T, et al. BINOL-Based Fluorescent Sensor for Recognition of Cu(II) and Sulfide Anion in Water[J]. Journal of Organic Chemistry. 2012, 77 (18): 8350 – 8354.
- [276] Cao X, Lin W, He L. A Near-Infrared Fluorescence Turn-On Sensor for Sulfide Anions[J]. Organic Letters. 2011, 13(17): 4716 – 4719.
- [277] Xing M, Liu C, Shan Q, et al. A fluorescein-based probe with high selectivity and sensitivity for sulfite detection in aqueous solution[J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2013, B188: 1196 – 1200.
- [278] Liu Z, Guo S, Piao J, et al. A reversible fluorescent probe for circulatory detection of sulfites through a redox-based tandem reaction[J]. RSC Advances. 2014, 4(97): 54554 – 54557.
- [279] Cheng X, Jia H, Feng J, et al. “Reactive” probe for hydrogen sulfite: Good ratiometric response and bioimaging application [J]. Sensors & Actuators B Chemical. 2013, 184: 274 – 280.
- [280] Yang X F, Zhao M, Wang G. A rhodamine-based fluorescent probe selective for

- bisulfite anion in aqueous ethanol media[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*. 2011, 152(1): 8–13.
- [281] Taylor S L, Higley N A, Bush R K. Sulfites in Foods: Uses, Analytical Methods, Residues, Fate, Exposure Assessment, Metabolism, Toxicity, and Hypersensitivity [J]. *Advances in Food and Nutrition Research*. 1986, 30: 1–76.
- [282] Wang C, Feng S, Wu L, et al. A new fluorescent turn-on probe for highly sensitive and selective detection of sulfite and bisulfite[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*. 2014, 190: 792–799.
- [283] Clive D L J, Cheng P. The marinopyrroles[J]. *Tetrahedron*. 2013, 69(25): 5067–5078.
- [284] Kojima H, Urano Y, Kikuchi K, et al. Fluorescent Indicators for Imaging Nitric Oxide Production[J]. *Angewandte Chemie International Edition*. 1999, 38(21): 3209–3212.
- [285] Helmchen F, Denk W. Deep tissue two-photon microscopy[J]. *Nature Methods*. 2005, 2(12): 932–940.
- [286] Dong X, Heo CH, Chen S, et al. Quinoline-Based Two-Photon Fluorescent Probe for Nitric Oxide in Live Cells and Tissues[J]. *Analytical Chemistry*. 2014, 86(1): 308–311.
- [287] Seo E W, Ji H H, Heo C H, et al. A Small-Molecule Two-Photon Probe for Nitric Oxide in Living Tissues[J]. *Chemistry*. 2012, 18(39): 12388–12394.
- [288] Zheng H, Shang G-Q, Yang S-Y, et al. Fluorogenic and Chromogenic Rhodamine Spirolactam Based Probe for Nitric Oxide by Spiro Ring Opening Reaction[J]. *Organic Letters*. 2008, 10(12): 2357–2360.
- [289] Tsuge K, Derosa F, Lim M D, et al. Intramolecular Reductive Nitrosylation: Reaction of Nitric Oxide and a Copper(II) Complex of a Cyclam Derivative with Pendant Luminescent Chromophores[J]. *Journal of the American Communication*. 2004, 126(21): 6564–6565.
- [290] Lv X, Wang Y, Zhang S, et al. A specific fluorescent probe for NO based on a new NO-binding group[J]. *Chemical Communications*. 2014, 50(56): 7499–7502.
- [291] Mao G J, Zhang X B, Shi X L, et al. A highly sensitive and reductant-resistant fluorescent probe for nitroxyl in aqueous solution and serum [J]. *Chemical Communications*. 2014, 50(43): 5790–5792.
- [292] Kawai K, Ieda N, Aizawa K, et al. A Reductant-Resistant and Metal-Free Fluorescent Probe for Nitroxyl Applicable to Living Cells [J]. *Journal of the American Communication*. 2013, 135(34): 12690–12696.
- [293] Zheng K, Lin W, Cheng D, et al. A two-photon fluorescent turn-on probe for nitroxyl (HNO) and its bioimaging application in living tissues [J]. *Chemical Communications*. 2015, 51(26): 5754–5757.
- [294] Zhou Y, Liu K, Li J Y, et al. Visualization of Nitroxyl in Living Cells by a Chelated Copper(II) Coumarin Complex[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(6): 1290–1293.
- [295] Cline M R, Toscano J P. Detection of nitroxyl (HNO) by a prefluorescent probe

- [J]. *Journal of Physical Organic Chemistry*. 2011, 24(10): 993 – 998.
- [296] Johnson G M, Chozinski T J, Gallagher E S, et al. Glutathione sulfonamide serves as a selective, endogenous biomarker for nitroxyl after exposure to therapeutic levels of donors[J]. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014, 76: 299 – 307.
- [297] Baelos J, Arbeloa F L, Arbeloa T, et al. Photophysical Study of New Versatile Multichromophoric Diads and Triads with BODIPY and Polyphenylene Groups[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2008, 112(43): 10816 – 10822.
- [298] Saha U C, Dhara K, Chattopadhyay B, et al. A New Half-Condensed Schiff Base Compound: Highly Selective and Sensitive pH-Responsive Fluorescent Sensor[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(17): 4510 – 4513.
- [299] Baruah M, Qin W, Basaric N, et al. BODIPY-Based Hydroxyaryl Derivatives as Fluorescent pH Probes[J]. *Journal of Organic Chemistry*. 2005, 70(10): 4152 – 4157.
- [300] Kiyose K, Kojima H, Urano Y, et al. Development of a Ratiometric Fluorescent Zinc Ion Probe in Near-Infrared Region, Based on Tricarbocyanine Chromophore[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(20): 6548 – 6549.
- [301] Cao X, Lin W, Yu Q, et al. Ratiometric Sensing of Fluoride Anions Based on a BODIPY-Coumarin Platform[J]. *Organic Letters*. 2011, 13(22): 6098 – 6101.
- [302] Fu L, Jiang F L, Fortin D, et al. A reaction-based chromogenic and fluorescent chemodosimeter for fluoride anions[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(19): 5503 – 5505.
- [303] Rao M R, Mobin S M, Ravikanth M. Boron-dipyrromethene based specific chemodosimeter for fluoride ion[J]. *Tetrahedron*. 2010, 66(9): 1728 – 1734.
- [304] Lu H, Wang Q, Li Z, et al. A specific chemodosimeter for fluoride ion based on a pyrene derivative with trimethylsilyl ethynyl groups[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2011, 9(12): 4558 – 4562.
- [305] Buckland D, Bhosale S V, Langford S J. A chemodosimer based on a core-substituted naphthalene diimide for fluoride ion detection[J]. *Tetrahedron Letters*. 2011, 52(16): 1990 – 1992.
- [306] Qin W, Leen V, Rohand T, et al. Synthesis, Spectroscopy, Crystal Structure, Electrochemistry, and Quantum Chemical and Molecular Dynamics Calculations of a 3 - Anilino Difluoroboron Dipyrromethene Dye [J]. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2009, 113(2): 439 – 447.
- [307] Kaloudi-Chantzea A, Karakostas N, Raptopoulou CP, et al. Coordination-Driven Self Assembly of a Brilliantly Fluorescent Rhomboid Cavitand Composed of Bodipy-Dye Subunits[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2010, 132(46): 16327 – 16329.
- [308] Benniston A C, Copley G, Harriman A, et al. Cofacial Boron Dipyrromethene (Bodipy) Dimers: Synthesis, Charge Delocalization, and Exciton Coupling[J]. *The Journal of organic chemistry*. 2010, 75(6): 2018 – 2027.
- [309] Sartin M M, Camerel F, Ziessel R, et al. Electrogenerated Chemiluminescence of

- B8amide: A BODIPY-Based Molecule with Asymmetric ECL Transients[J]. The Journal of Physical Chemistry C. 2008, 112(29): 10833 – 10841.
- [310] Lai RY, Bard A J. Electrogenerated Chemiluminescence 71. Photophysical, Electrochemical, and Electrogenerated Chemiluminescent Properties of Selected Dipyrrromethene – BF_2 Dyes[J]. Journal of Physical Chemistry B. 2003, 107(21): 5036 – 5942.
- [311] Qin W, Leen V, Dehaen W, et al. 3,5 – Dianilino Substituted Difluoroboron Dipyrrromethene: Synthesis, Spectroscopy, Photophysics, Crystal Structure, Electrochemistry, and Quantum-Chemical Calculations[J]. The Journal of Physical Chemistry C. 2009, 113(27): 11731 – 11740.
- [312] Krumova K, Cosa G. Bodipy Dyes with Tunable Redox Potentials and Functional Groups for Further Tethering: Preparation, Electrochemical, and Spectroscopic Characterization[J]. Journal of the American Chemical Society. 2010, 132(49): 17560 – 17569.
- [313] Vu T T, Badre S, Dumas-Verdes C, et al. New Hindered BODIPY Derivatives: Solution and Amorphous State Fluorescence Properties [J]. Journal of Physical Chemistry C. 2009, 113(27): 11844 – 11855.
- [314] Camerel F, Bonardi L, Ulrich G, et al. Self-Assembly of Fluorescent Amphipathic Borondipyrrromethene Scaffoldings in Mesophases and Organogels [J]. Revista Mexicana De Biodiversidad. 2006, 18(21): 54 – 865.
- [315] Frein S, Camerel F, Ziessel R, et al. Highly Fluorescent Liquid-Crystalline Dendrimers Based on Borondipyrrromethene Dyes[J]. Chemistry of Materials. 2009, 21(17): 3950 – 3959.
- [316] Camerel F, Bonardi L, Schmutz M, Ziessel R. Highly Luminescent Gels and Mesogens Based on Elaborated Borondipyrrromethenes[J]. Journal of the American Chemical Society. 2006, 128(14): 4548 – 4549.
- [317] Tomasulo M, Deniz E, Alvarado R J, et al. Photoswitchable Fluorescent Assemblies Based on Hydrophilic BODIPY-spiropyran Conjugates [J]. Journal of Physical Chemistry C. 2008, 112(21): 8038 – 8045.
- [318] Boaz N W, Mackenzie E B, Debenham S D, et al. Synthesis and Application of Phosphinoferrocenylaminophosphine Ligands for Asymmetric Catalysis [J]. The Journal of Organic Chemistry. 2005, 70(5): 1872 – 1880.
- [319] Mikroyannidis J A, Kabanakis A N, Tsagkournos D V, et al. Bulk heterojunction solar cells based on a low band gap soluble bisazopyrrole and the corresponding BF_2 – azopyrrole complex[J]. Journal of Materials Chemistry. 2010, 20(31): 6464 – 6471.
- [320] Huh J O, Do Y, Lee M H. A BODIPY – Borane Dyad for the Selective Complexation of Cyanide Ion[J]. Organometallics. 2008, 27(6): 1022 – 1025.
- [321] Bissell R A, De Silva A P, Gunaratne H Q N, et al. Molecular fluorescent signalling with ‘fluor-spacer-receptor’ systems: approaches to sensing and switching devices via supramolecular photophysics[J]. Chemical Society Reviews. 1992, 21(3): 187 –

- 190.
- [322] Bhat A P, Pomerantz W C K, Arnold W A. Finding Fluorine. Photoproduct Formation during the Photolysis of Fluorinated Pesticides[J]. Environmental Science & Technology. 2022, 56(17): 12336 – 12346.
- [323] Jiao L, Yu C, Liu M, et al. Synthesis and Functionalization of Asymmetrical Benzo-Fused BODIPY Dyes[J]. Journal of Organic Chemistry. 2010, 75 (17): 6035 – 6038.
- [324] Qu Y, Hua J, Tian H. Colorimetric and Ratiometric Red Fluorescent Chemosensor for Fluoride Ion Based on Diketopyrrolopyrrole[J]. Organic Letters. 2010, 12(15): 3320 – 3323.
- [325] Kumar S, Luxami V, Kumar A. Chromofluorescent Probes for Selective Detection of Fluoride and Acetate Ions[J]. Organic Letters. 2008, 10(24): 5549 – 5552.
- [326] Lin Z-h, Ou S-j, Duan C-y, et al. Naked-eye detection of fluoride ion in water: a remarkably selective easy-to-prepare test paper[J]. Chemical Communications. 2006 (6): 624 – 626.
- [327] Long L, Zhou L, Wang L, et al. A ratiometric fluorescent probe for iron(III) and its application for detection of iron(III) in human blood serum[J]. Analytica Chimica Acta. 2014, 812: 145 – 151.
- [328] Annie Ho J A, Chang H C, Su W T. DOPA-Mediated Reduction Allows the Facile Synthesis of Fluorescent Gold Nanoclusters for Use as Sensing Probes for Ferric Ions [J]. Analytical Chemistry. 2012, 84(7): 3246 – 3253.
- [329] Yang C X, Ren H B, Yan X P. Fluorescent Metal-Organic Framework MIL – 53 (Al) for Highly Selective and Sensitive Detection of Fe³⁺ in Aqueous Solution[J]. Analytical Chemistry. 2013, 85(15): 7441 – 7446.
- [330] Şenol A M, Onganer Y, Meral K. An unusual “off-on” fluorescence sensor for iron (III) detection based on fluorescein-reduced graphene oxide functionalized with polyethyleneimine[J]. Sensors and Actuators B: Chemical. 2017, 239: 343 – 351.
- [331] Leitch S K, McCluskey A. A High Yielding One-Pot Synthesis of Allylic-Vinyl Alcohols: The Adducts of Tetraallylstannane and α , β – Unsaturated Carbonyl Compounds[J]. Synlett. 2003(5): 699 – 701.
- [332] Ko S K, Yang Y K, Tae J, Shin I. In Vivo Monitoring of Mercury Ions Using a Rhodamine-Based Molecular Probe[J]. Journal of the American Chemical Society. 2006, 128(43): 14150 – 14155.
- [333] Xin Q, Jun E J, Li X, et al. New BODIPY Derivatives as OFF-ON Fluorescent Chemosensor and Fluorescent Chemodosimeter for Cu²⁺: Cooperative Selectivity Enhancement toward Cu²⁺ [J]. Journal of Organic Chemistry. 2006, 71(7): 2881 – 2884.
- [334] Nolan E M, Lippard S J. MS4, a seminaphthofluorescein-based chemosensor for the ratiometric detection of Hg(ii) [J]. Journal of Materials Chemistry. 2005, 15(27 – 28): 2778 – 2783.
- [335] Rurack K, Resch-Genger U, Bricks J L, et al. Cation-triggered ‘switching on’ of

- the red/near infra-red (NIR) fluorescence of rigid fluorophore-spacer-receptor ionophores[J]. *Chemical Communications*. 2000, 2(21): 2103–2104.
- [336] Sancenón F, Martínez-Máñez R, Soto J. Colourimetric detection of Hg^{2+} by a chromogenic reagent based on methyl orange and open-chain polyazaalkanes[J]. *Tetrahedron Letters*. 2001, 42(26): 4321–4323.
- [337] Wang H, Li Y, Xu S, et al. Rhodamine-based highly sensitive colorimetric off-on fluorescent chemosensor for Hg^{2+} in aqueous solution and for live cell imaging[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2011, 9(8): 2850–2855.
- [338] Liu W-Y, Shen S-L, Li H-Y, et al. Fluorescence turn-on chemodosimeter for rapid detection of mercury (II) ions in aqueous solution and blood from mice with toxicosis [J]. *Analytica Chimica Acta*. 2013, 791: 65–71.
- [339] Ma X, Wang J, Shan Q, et al. A “Turn-on” Fluorescent Hg^{2+} Chemosensor Based on Ferrier Carbocyclization[J]. *Organic Letters*. 2012, 14(3): 820–823.
- [340] Liu Y, Xin L, Yun Z, et al. A naphthalimide-rhodamine ratiometric fluorescent probe for Hg^{2+} based on fluorescence resonance energy transfer [J]. *Dyes and Pigments*. 2012, 92(3): 909–915.
- [341] Sen B, Mukherjee M, Pal S, et al. A water soluble FRET-based ratiometric chemosensor for $\text{Hg}(\text{II})$ and S^{2-} applicable in living cell staining [J]. *RSC Advances*. 2014, 4(29): 14919–14927.
- [342] Strausak D, Mercer J F B, Dieter H H, et al. Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer’s, Menkes, and Wilson diseases[J]. *Brain Research Bulletin*. 2001, 55(2): 175–185.
- [343] Ko K C, Wu J S, Kim H J, et al. Rationally designed fluorescence ‘turn-on’ sensor for $\text{Cu}(2+)$ [J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(11): 3165–3167.
- [344] Zeng L, Miller E W, Pralle A, et al. A Selective Turn-On Fluorescent Sensor for Imaging Copper in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(1): 10–11.
- [345] Wu Y, Peng X, Guo B, et al. Boron dipyrromethene fluorophore based fluorescence sensor for the selective imaging of $\text{Zn}(\text{II})$ in living cells[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2005, 3(8): 1387–1392.
- [346] Zou W, Nguyen H N, Zastrow M L. Mutant Flavin-Based Fluorescent Protein Sensors for Detecting Intracellular Zinc and Copper in *Escherichia coli* [J]. *ACS Sensors*. 2022, 7(11): 3369–3378.
- [347] Tang B, Yu F, Li P, et al. A Near-Infrared Neutral pH Fluorescent Probe for Monitoring Minor pH Changes: Imaging in Living HepG2 and HL–7702 Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2009, 131(8): 3016–3023.
- [348] Peng X, Du J, Fan J, et al. A Selective Fluorescent Sensor for Imaging $\text{Cd}(2+)$ in Living Cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2007, 129(6): 1500–1501.
- [349] Masuda T, Fujita Y. Regulation and evolution of chlorophyll metabolism [J]. *Photochemical and Photobiological Sciences*. 2008, 7(10): 1131–1149.

- <<<< -----
- [350] Murtagh J, Frimannsson D O, O'Shea D F. Azide Conjugatable and pH Responsive Near-Infrared Fluorescent Imaging Probes[J]. *Organic Letters*. 2009, 11(23): 5386 – 5389.
- [351] Shahrokhian S. Lead Phthalocyanine as a Selective Carrier for Preparation of a Cysteine-Selective Electrode[J]. *Analytical Chemistry*. 2001, 73(24): 5972 – 5978.
- [352] Zhang X, Lee S, Liu Y, et al. Anion-activated, thermoreversible gelation system for the capture, release, and visual monitoring of CO₂[J]. *Scientific Reports*. 2014, 4 (6179): 4593.
- [353] Yu G, Yasuteru U, Kikuchi K, et al. Highly Sensitive Fluorescence Probes for Nitric Oxide Based on Boron Dipyrromethene Chromophore-Rational Design of Potentially Useful Bioimaging Fluorescence Probe[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, 126(10): 3357 – 3367.
- [354] Coskun A, Deniz E, Akkaya E U. Effective PET and ICT Switching of Boradiazaindacene Emission: A Unimolecular, Emission-Mode, Molecular Half-Subtractor with Reconfigurable Logic Gates[J]. *Organic Letters*. 2005, 7(23): 5187 – 5189.
- [355] Tanaka K, Miura T, Umezawa N, et al. Rational Design of Fluorescein-Based Fluorescence Probes. Mechanism-Based Design of a Maximum Fluorescence Probe for Singlet Oxygen[J]. *Journal of the American Chemical Society*. 2001, 123(11): 2530 – 2536.
- [356] Yang H, Yi T, Zhou Z, et al. Switchable Fluorescent Organogels and Mesomorphic Superstructure Based on Naphthalene Derivatives[J]. *Langmuir*. 2007, 23(15): 8224 – 8230.
- [357] Lu H, Zhang S S, Liu H Z, et al. Experimentation and Theoretic Calculation of a BODIPY Sensor Based on Photoinduced Electron Transfer for Ions Detection[J]. *Journal of Physical Chemistry A*. 2009, 113(51): 14081 – 14086.
- [358] Rochat S, Severin K. A simple fluorescence assay for the detection of fluoride in water at neutral pH[J]. *Chemical Communications*. 2011, 47(15): 4391 – 4393.
- [359] Buyukcikir O, Bozdemir O A, Kolenen S, et al. Tetrastaryl-Bodipy Dyes: Convenient Synthesis and Characterization of Elusive Near IR Fluorophores[J]. *Organic Letters*. 2009, 11(20): 4644 – 4647.
- [360] Deniz E, Isbasar G C, Bozdemir Ö A, et al. Bidirectional Switching of Near IR Emitting Boradiazaindacene Fluorophores[J]. *Organic Letters*. 2008, 10(16): 3401 – 3403.
- [361] Luo J, Xie Z, Lam J W Y, et al. Aggregation-induced emission of 1 – methyl – 1,2, 3,4,5 – pentaphenylsilole[J]. *Chemical Communications*. 2001(18): 1740 – 1741.
- [362] Feng G, Qin W, Hu Q, et al. Cellular and Mitochondrial Dual-Targeted Organic Dots with Aggregation-Induced Emission Characteristics for Image-Guided Photodynamic Therapy[J]. *Advanced Healthcare Materials*. 2015, 4(17): 2667 – 2676.
- [363] Li X, Wang X, Ding J, et al. Engineering Active Surface Oxygen Sites of Cubic

- Perovskite Cobalt Oxides toward Catalytic Oxidation Reactions[J]. ACS Catalysis. 2023, 13(9): 6338 – 6350.
- [364] Que E L, Domaille D W, Chang C J. Metals in neurobiology: probing their chemistry and biology with molecular imaging[J]. Cheminform. 2008, 39(33): 1517 – 1549.
- [365] Shim M S, Xia Y. A Reactive Oxygen Species (ROS) – Responsive Polymer for Safe, Efficient, and Targeted Gene Delivery in Cancer Cells[J]. Angewandte Chemie International Edition. 2013, 125(27): 7064 – 7067.