DOI:10. 19431/j. cnki. 1673-0062. 2020. 02. 013

基于分子内电荷转移的近红外荧光探针的设计合成及其 对 N₂H₄识别和细胞成像性能研究

黄秋香,胡清华,王宏青*

(南华大学化学化工学院,湖南 衡阳 421001)

摘 要:设计并合成了一种新型近红外异佛尔酮衍生物荧光探针(IS—NR—NH),利 用肼(N₂H₄)特异性诱导的脱乙酰基反应,使得探针分子内电荷转移效应由弱变强, 从而导致荧光增强,最终实现肼的选择性检测。该探针在 HCO₃⁻,SO₄²⁻,Cl⁻,SO₃²⁻, CO₃²⁻,Ac⁻,Br⁻,NO₃⁻,NO₂⁻,HSO₃⁻,I⁻,F⁻,Mg²⁺,Co²⁺,Cd²⁺,Zn²⁺,Pb²⁺,Cr³⁺,Fe³⁺, Al³⁺,Mn²⁺,Ca²⁺,Ba²⁺等不同干扰物质存在下,仍能实现对N₂H₄的特异性比色及荧光 识别。同时,在pH7.4,二甲基亚砜与磷酸缓冲溶液的体积比为6:4的体系中,探 针IS—NR—NH 对N₂H₄在0.02×10⁻³~0.4×10⁻³ mol/L的浓度范围内呈现出良好的 线性关系,且检测限低至2×10⁻⁷ mol/L。此外,探针成功地实现了对 HeLa 细胞中 N₂H₄的近红外荧光成像。 **关键词:**肼;异佛尔酮衍生物;近红外荧光探针;细胞成像 **中图分类号:**O657.3;O625.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-0062(2020)02-0082-09

Design and Synthesis of Near-infrared Fluorescence Probe Based on Intramolecular Charge Transfer Mechanism for N₂H₄ Identification and Cell Imaging

HUANG Qiuxiang, HU Qinghua, WANG Hongqing*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: A novel near-infrare disophorone-derivative based fluorescent probe(IS—NR—NH) was designed and synthesized, and the utilization of N_2H_4 -induced the acetylation deprotection reaction made the intramolecular charge transfereffect turned on and eventually

收稿日期:2019-12-06

基金项目:湖南省研究生科研创新项目(CX20190728)

作者简介:黄秋香(1995-),女,硕士研究生,主要从事近红外荧光分子的设计,合成和性质方面的研究。E-mail: 1942965927@qq.com。*通信作者:王宏青(1967-),男,教授,博士,主要从事功能分子的设计,合成和性 质以及分子识别分离方面的研究。E-mail:HQWang2015@126.com

realized the selective detection of hydrazine. The probe can still achieve specific colorimetric and fluorescent recognition of N_2H_4 even in the presence of different analytes such as HCO_3^- , SO_4^{2-} , CI^- , SO_3^{2-} , CO_3^{2-} , Ac^- , Br^- , NO_3^- , NO_2^- , HSO_3^- , I^- , F^- , Mg^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} . At the same time, in the system of pH 7.4 and the volume ratio of 6 : 4 between dimethyl sulfoxide and phosphate buffer solution, the probe IS—NR—NH showed a good linear relationship with the concentration of N_2H_4 in the range of $0.02 \times 10^{-3} - 0.4 \times 10^{-3}$ mol/L, and the detection limit was as low as 2×10^{-7} mol/L. In addition, the probe successfully achieved the near-infrared fluorescence imaging of N_2H_4 in HeLa cells.

key words: hydrazine; isophorone derivative; near-infrared fluorescent probe; cell imaging

0 引 言

肼(N₂H₄)是一种高反应活性的碱,具有强的 还原性,在化学、医药、农药等有着至关重要的作 用^[1-2]。它常用作抗氧化剂、聚合物的原料、塑料 的发泡剂以及火箭燃料等^[34]。但是,由于肼不稳 定,在制造、运输、使用和处理过程中极易严重污 染环境,而且肼具有高神经毒性,易被皮肤吸收和 呼吸吸入,从而引起头痛,肝肾损害等^[5-6]。因此, 开发一种灵敏、可靠、高选择性以及可用于环境及 细胞中检测 N₂H₄ 的方法是非常有必要的。

目前,已有几种用于检测 N,H₄ 的常规方法 报道,如色谱法、电化学方法、滴定分析法等^[7-10]。 然而,这些方法通常不仅耗时、样品制备复杂、需 要特殊分析仪器而且难以实现生物样品监测。荧 光探针由于其检测方法简单、灵敏度高以及良好 的生物兼容性常被用于传感器的设计与开 发^[11-12]。迄今为止,已经报道了许多用于 N₂H₄ 检测的荧光探针,如香豆素衍生物^[13-14]、黄酮类 衍生物^[15]、二氯荧光素二乙酸酯^[16]、溴丁酸荧光 素[17-18]、邻苯二甲酰亚胺[19-20]等。但是这些探针 大部分在检测 N₂H₄ 时,吸收和发射通常位于紫 外或短波长区域,这限制了它们在生物样品中的 进一步应用[21]。而近红外荧光探针凭借其弱自 身荧光干扰、低光损伤以及良好的组织通透性等 优势^[22],更有利于实现 N₂H₄ 在生物体内的灵敏 检测。另外,如果探针拥有较小的 Stokes 位移,其 就容易由于"自吸收"效应的干扰而在某种程度 上降低荧光探针的灵敏度[23-24]。

因此,为了解决荧光探针短波长发射的问题 及探针能在细胞中实现 N₂H₄ 的近红外荧光成 像,本文设计并合成了一种新型近红外发射的荧 光探针-异佛尔酮衍生物(IS—NR—NH)。利用 N_2H_4 诱导乙酰基发生脱保护反应,得到具有 D— π —A 结构的 IS—NR—O 荧光基团从而增强分子 内电荷转移(intramolecular charge transfer, ICT)效 应,最终实现 N_2H_4 的选择性检测。该探针在 N_2H_4 的存在下,不仅具有近红外发射($\lambda_{em} = 666 \text{ nm}$)和 较大的 Stokes 位移($\geq 97 \text{ nm}$),而且成功应用于 HeLa 细胞中 N_2H_4 的成像检测。在 pH 7.4,二甲 基亚砜(DMSO)与磷酸缓冲溶液(PBS)的体积比为 6:4 的体系中,探针 IS—NR—NH 对 N_2H_4 表现出 宽的荧光检测范围(0.02×10⁻³~0.4×10⁻³ mol/L) 且检测限可低至 2×10⁻⁷ mol/L。此外,即使在不同 分析物的存在下,探针依然可以实现 N_2H_4 的特 异性检测且可通过比色的方法区别 N_2H_4 和其他 分析物,表明探针具备在环境水样中检测 N_2H_4 的潜在应用价值。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器:UV-3900 紫外-可见分光光度计(日本岛 津),Hitachi-F7000 荧光光谱仪(日本岛津),IKA-MAGHS7 恒温加热磁力搅拌器(广州仪科实验室技 术),D2F-700 真空干燥箱(雷韵试验仪器),pHs-3C 数字酸度计(上海鹏顺科学仪器厂),Alliance e2695-ACQUITY QDa 高分辨质谱仪(美国 Waters),Bruker-400MHz 核磁共振氢谱仪(瑞士布 鲁克),TE2000 倒置荧光显微镜(日本尼康)。

试剂:所有化学药品(溶剂,试剂和金属盐) 均为分析级,购自阿拉丁(中国上海),无需进一 步纯化。光谱测试用的阴离子为钠盐、阳离子为 硝酸盐。磷酸缓冲溶液(PBS)用二水磷酸二氢钠 和十二水合磷酸氢二钠混合配制成 pH 7.4 的 溶液。

1.2 荧光探针 IS-NR-NH 的合成

探针 IS--NR---NH 的合成分三步,如图 1

所示。





1)化合物 b 的合成:首先将异佛尔酮(3.455 g, 25 mmol)和丙二腈(1.980 g,30 mmol)溶于无水 EtOH(50 mL)中,然后加入哌啶(0.25 mL,2.5 mmol) 和冰醋酸(0.15 g,2.5 mmol)。接着,在 N₂ 气氛下 将混合物回流 6 h 后,用水淬灭,并用二氯甲烷萃 取,经无水硫酸钠干燥,过滤。真空浓缩后,将其 通过柱色谱(用石油醚/二氯甲烷的体积比为1:3 洗脱)纯化后得到 b,b 为浅黄色固体(3.63 g,收 率78%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 6.56(s,1H),2.54(s,2H),2.23(s,2H),2.05(s, 3H),0.96(s,6H)。C₁₂H₁₄N₂ 的 HR-MS 理论值 m/z(%):186.1157,实际值:185.1086 [M-H]⁻。

2) 化合物 IS—NR—OH 的合成:加入 20 mL 乙腈以溶解化合物 b(259 mg,1.4 mmol)和对羟 基苯甲醛(170 mg,1.4 mmol),然后加入五滴哌 啶。将混合物在 N_2 气氛下回流 5 h,然后蒸发溶 剂并通过减压除去。将所得残余物溶于 20 mL 二 氯甲烷中,用水(3×20 mL)洗涤,并用无水 Na_2SO_4 干燥。除去溶剂后,粗产物通过硅胶柱色 谱纯化(石油醚/二氯甲烷的体积比为 1:1),得 到所 需 产物,为橙 色 固 体 (335 mg,收率 85.2%)。¹H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ(ppm) 9.99(s,1H),7.57 – 7.55(d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.22–7.23(d, J = 4.0 Hz, 2H),6.81 ~ 6.79(m, 3H),2.60(s, 2H),2.53(s, 2H),1.02(s, 6H)。 $C_{19}H_{18}N_2O$ 的 HR-MS 理论值 m/z(%):290.1419, 实际值:313.1307 [M+Na]⁺。

3) 探针化合物 IS—NR—NH 的合成:向含有 IS—NR—OH(174 mg,0.6 mmol)的二氯甲烷 (13 mL)溶液中,加入N,N-二异丙基乙胺(200 μL, 1.2 mmol),搅拌5 min。最后再往其中滴加溶有 乙酰氯(300 µL)的二氯甲烷溶液 2 mL,于室温下 搅拌过夜。然后,减压除去溶剂,通过硅胶快速色 谱法(用石油醚/二氯甲烷的体积比为 2 : 1 洗 脱)纯化得到的残余物,得到期望的产物,为黄色 固体(169 mg,收率 85%)。¹H NMR(400 MHz,DM-SO- d_6) δ (ppm) 7.79 ~ 7.72(m,2H),7.42(d,J= 16.2 Hz,1H),7.30(d,J = 16.2 Hz,1H),7.227.15 (m,2H),6.91(s,1H),2.63(s,2H),2.56(s,2H), 2.29(s,3H),1.03(s,5H)。C₂₁H₂₀N₂O₂ 的理论值 m/z(%):332.15,实际值:355.2125 [M+Na]⁺。

1.3 光谱测试

将探针 IS—NR—NH 与原料 IS—NR—OH 用 乙腈溶解制成浓度为 1×10⁻³ mol/L 的储存液,常 温保存。水合肼用蒸馏水配制成 20×10⁻³ mol/L 的溶液,低温避光保存。将其他分析物 HCO₃⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, SO₃²⁻, CO₃²⁻, Ac⁻, Br⁻, NO₃⁻, NO₂⁻, HSO₃⁻, I⁻, F⁻等钠盐以及 Mg²⁺, Co²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Al³⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺等硝酸盐用 蒸馏水配制成 20×10⁻³ mol/L 备用。测试体系:向 5 mL 的西林瓶中加入 DMSO 与 PBS 的体积比为 6:4, pH 7.4 的体系, 接着将 100 µL 的探针加入 其中,最后加入 125 µL 的 N₂H₄ 溶液。将它们混 合均匀后,将西林瓶置于 37 ℃的环境下让其反应 45 min,再进行测定。荧光光谱测量参数设置: $\lambda_{ex} = 555 ~ 750$ nm, $\lambda_{em} = 666$ nm, 狭缝宽度为 10 nm 和 10 nm,电压为 550 V。

1.4 计算方法

为了研究相互作用模式,本文用 Gaussian 09 程序的 B3LYP/6-311G(d)方法分别对探针 IS— NR—NH 以及 IS—NR—O 进行了密度泛函理论 (density functional theory, DFT)计算。

1.5 细胞培养

首先在 37 ℃和 CO₂ 体积分数为 5% 的条件 下,将 HeLa 细胞置于培养皿中孵育 12 h。接着 用 PBS 将孵育好的 HeLa 细胞洗两次,再加入 2× 10^{-5} mol/L 的探针 IS—NR—NH 继续孵育。37 ℃ 下孵育 1 h 后,用 PBS 洗去未被细胞吸收的探针, 接着加入 0.5×10⁻³ mol/L 的 N₂H₄ 溶液孵育 1 h。 对照组则直接加入 2×10⁻⁵ mol/L 的探针 IS— NR—NH 孵育 1 h,最后收集荧光图像。

2 结果与讨论

2.1 紫外及荧光光谱特性测试

首先,在5 mLpH 为7.4,溶剂 DMSO 与 PBS

的体积比为6:4 的混合溶剂中加入各待测物,并 于37 ℃的环境中反应45 min后,分别测定了2× 10^{-5} mol/L的探针、2× 10^{-5} mol/L的探针与0.5× 10^{-3} mol/L的N₂H₄ 的混合溶液以及2× 10^{-5} mol/L 化合物 IS—NR—OH 的紫外吸收光谱和荧光光谱, 如图2所示。探针 IS—NR—NH 的最大吸收波长 位于399 nm 处;在激发波长为535 nm 的情况下, 由于 D-π-A 结构的 ICT 效应被乙酰氧所抑制,导 致其在666 nm 处的荧光强度较低。而在加入 N₂H₄ 溶液之后,吸收峰发生了红移,并分别在 425 nm 处与569 nm 处出现了两个新的吸收峰, 另外666 nm 处的荧光强度显著增强。这是由于 在加入 N₂H₄ 溶液之后,N₂H₄ 与酰氧键发生亲核反 应使酰氧键断裂,形成了 IS—NR—O,使得 ICT 效 应增强,故在 569 nm 处出现新的紫外吸收峰并表 现为 666 nm 处荧光显著增强;而 425 nm 处的峰归 因于 IS—NR—O 在 pH 7.4 的条件下存在与 IS— NR—OH 的转化,如图 3 所示。而 IS—NR—OH 也 分别在 448 nm 和 569 nm 处出现了吸收峰,荧光 发射峰也位于 666 nm 处,这与探针在加入 N_2H_4 溶液之后的现象一致。同时,溶液在加入 N_2H_4 溶液之前,裸眼观察为黄色,365 nm 紫外灯下无 荧光;而在加入 N_2H_4 溶液之后,裸眼观察溶液变 紫且在 365 nm 紫外灯下呈现出红色的荧光,这与 实验测得的紫外及荧光光谱一致。除此之外,该 探针表现出较大的 Stokes 位移(≥97 nm),有利 于实现对生物体内 N_2H_4 的检测。











2.2 溶剂比例对荧光光谱测定的影响

向 9 支比色管中加入 5 mL 不同体积比例的 DMSO 与 PBS 缓冲溶液(pH 7.4),接着分别加入 100 μL 1×10⁻³ mol/L 的探针 IS—NR—NH 和 125 μL 20×10⁻³ mol/L 的 N₂H₄ 溶液,37 ℃下搅拌 反应 45 min 后测试。图 4 为 IS—NR—NH 在不 同 DMSO 含量的条件下对 N_2H_4 溶液的荧光响 应。结果表明, IS—NR—NH 在 DMSO 与 PBS 的 体积比为6:4 的体系下对 N_2H_4 的荧光响应效果 最佳, 故在所有光谱测定的实验中, 所用的体系都 为 V_{DMSO} : V_{PBS} = 6:4。





2.3 pH 对荧光光谱测定的影响

先配制 pH 为 3,4,5,6,7,8,9,10,11,12 的 PBS 溶液,再按上述步骤逐步加入 IS—NR—NH 和 N_2H_4 溶液,再进行测试。测得结果如图 5 所 示,在未加入 N_2H_4 溶液之前,pH 在 3 ~ 7 的范围 内对纯探针 IS—NR—NH 的荧光强度没有影响, 而在 pH 7 以后,其荧光强度随 pH 的增大而增 强,这说明,pH 对探针荧光强度的影响较大。而 在加入 N_2H_4 溶液之后,荧光强度在 pH 为 6 ~ 8 时逐步增强,在 9 ~ 12 的范围内保持不变。考虑 到后续探针 IS—NR—NH 在细胞体内的应用以及 生物学相关的 pH 范围为 6.0 ~ 7.6,故在所有实 验中,将 PBS 的 pH 设定为 7.4。



2.4 反应动力学的研究

由于测试时间对此探针检测 N2H4 的荧光强度

影响较大,故研究了 IS—NR—NH(2×10^{-5} mol/L)在 V_{DMS0}: V_{PBS} = 6:4 的溶液(PBS = 20×10^{-3} mol/L, pH 7.4)中分别与浓度为 0 mol/L、0.1×10⁻³ mol/L L、0.3×10⁻³ mol/L、0.6×10⁻³ mol/L 的 N₂H₄ 的反 应动力学。其结果如图 6 所示,在不加 N₂H₄ 时, 纯探针 IS—NR—NH 的荧光强度随时间的推移并 未发生大的变化;而在加入不同当量的 N₂H₄ 之 后,45 min 内荧光强度都发生了较大的增强,之后 则几乎保持不变,说明 N₂H₄ 诱导探针 IS—NR— NH 分子内乙酰基水解在 45 min 以内可以反应完 全,生成具有强烈近红外荧光的化合物 IS—NR— O。因此,本文在所有光谱测试中的反应时间都 为 45 min。



2.5 荧光光谱线性范围

本文在 DMSO :PBS=6:4(PBS=20×10⁻³ mol/L, pH 7.4)的体系下,研究了探针 IS—NR—NH(2× 10⁻⁵ mol/L)对不同浓度的 N₂H₄ 溶液(0 mol/L ~ 6×10^{-4} mol/L)的荧光检测性能。如图 7(a)所示, 纯探针表现出弱的荧光发射强度(666 nm),这可 能是由于乙酰基对—OH 的保护,抑制了荧光分 子的 ICT 过程。随着 N₂H₄ 溶液浓度的增大,生成 的 IS—NR—O 浓度不断增大,ICT 进程开启,溶液 在 666 nm 处的荧光发射强度逐渐增强,并在 0.4×10⁻³ mol/L 的 N₂H₄ 浓度时,荧光强度达到最 大,之后基本保持不变。同时,以溶液的荧光强度 对不同 N₂H₄ 浓度作图,如图 7(b)所示,拟合后的 方程为 y=48.743 3+4.669 4×[N₂H₄],其表现出 良好的线性关系, R^2 =0.994 4。根据 LOD=3 δ/k (δ 是空白样品的标准偏差,k 是溶液荧光强度和 不同 N₂H₄ 浓度的斜率的绝对值),计算得到探针

对 N₂H₄ 检测限低至 2×10⁻⁷ mol/L₂



图 7 探针中加入不同浓度 N₂H₄ 的荧光光谱图及荧光强度线性关系图

Fig. 7 The fluorescent spectrums of probe IS—NR—NH upon the addition of different concentration of N_2H_4 ; The linear relationship diagram of the fluorescence intensity of probe at different concentrations of N_2H_4

2.6 DFT 计算对检测机理的解释

本文通过密度泛函理论(DFT)计算,进一步 研究探针 IS—NR—NH、IS—NR—O 的光学性能。 用 Gaussian 09 程序的 RB3LYP 泛函和 6-311G (d)基组分别计算了两者的分子结构、轨道电子 云分布以及它们相应的 HOMO-LUMO 轨道能量, 如图 8 所示。IS—NR—NH 的 HOMO-LUMO 轨道 的电子云主要分布在 π 共轭链上,而侧链上以及 乙酰基部分分布的电子较少;对于加入 N₂H₄ 后 生成的 IS—NR—O 来说,与芳香环相连的氧负离 子使得其 LUMO 轨道上的电子云比探针 IS— NR—NH 更分散,这就让给电子的苯氧基氧负离 子部分将电子通过共轭链将电子传递到吸电子的 二氰基异佛尔酮部分,从而导致荧光分子 ICT 效 应显著增强,使得荧光强度增强,而轨道能级差 (E_g)的变化也验证了探针反应前后的颜色变化。



图 8 IS—NR—NH、IS—NR—O 的结构优化 Fig. 8 The structural optimization of IS—NR—NH、IS—NR—O

2.7 选择性与竞争性研究

为了进一步探究探针 IS—NR—NH 对 N₂H₄ 的专一识别能力,实验中选取了其他一些常见的 离子(HCO₃⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, SO₃²⁻, CO₃²⁻, Ac⁻, Br⁻, NO₃⁻, NO₂⁻, HSO₃⁻, I⁻, F⁻, Mg²⁺, Co²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺,Cr³⁺,Fe³⁺,Al³⁺,Mn²⁺,Ca²⁺,Ba²⁺)作为分析 对象。将相当于 25 倍探针浓度(2×10⁻⁵ mol/L) 的上述离子加入到探针溶液中,37 ℃下反应 45 min 后测试荧光光谱。结果如图 9(a)所示,加 入的这些离子不会使体系荧光产生明显变化,而 只有加入 N_2H_4 的溶液使得探针 IS—NR—NH 在 666 nm 处的荧光强度显著增强。另外,图 9(c) (d)的结果显示,在探针中加入其它常见离子后, 溶液颜色仍为黄色且无荧光;而在加入 N_2H_4 的 探针溶液中,可观察到溶液变紫且在紫外灯下表 现出明亮的红色荧光,这表明该探针对 N_2H_4 具 有专一的比色识别能力。除此之外,本文也研究 了同时存在各种干扰物质(1. HCO_3^- ; 2. SO_4^{2-} ; 3. Cl^- ; 4. SO_3^{2-} ; 5. CO_3^{2-} ; 6. Ac^- ; 7. Br^- ; 8. NO_3^- ; 9. NO₂⁻;10. HSO₃⁻;11. I⁻;12. F⁻;13. Mg²⁺;14. Co²⁺; 15. Cd²⁺; 16. Zn²⁺; 17. Pb²⁺; 18. Cr³⁺; 19. Fe³⁺; 20. Al³⁺;21. Mn²⁺;22. Ca²⁺;23. Ba²⁺;24. N₂H₄)的情 况下,探针 IS—NR—NH 对 N₂H₄ 的检测能力(图 9(b))。其结果表明,这些离子对探针 IS—NR— NH 检测 N₂H₄ 并未出现强烈的干扰。由此可得 出,探针 IS—NR—NH 对 N₂H₄ 表现出高度特异 性的识别能力。





2.8 细胞成像研究

在细胞成像实验中,选取了 HeLa 细胞作为 探针 IS—NR—NH 对 N_2H_4 荧光成像的载体。如 图 10 所示,仅探针 IS—NR—NH(2×10⁻⁵ mol/L) 加入到细胞中孵育时,探针在暗视场中并未产生

荧光,这说明 IS—NR—NH 不与细胞内部其他物 质发生反应。而加入 $N_2H_4(0.5 \times 10^{-3} mol/L)$ 之 后,细胞内部出现强烈的红色荧光。因此,探针 IS—NR—NH 不仅具有良好的细胞通透性,而且 具有识别细胞内 N_3H_4 的能力。





Fig. 10 The fluorescent images of pure probe and probe in the existence of N_2H_4 in HeLa cells

3 结 论

成功设计合成了一种选择性好、灵敏度高的 新型近红外荧光探针用于 N₂H₄ 检测,探针 IS— NR—NH 通过与 N₂H₄ 作用发生亲核反应,脱去 了保护基团乙酰基部分,生成了 IS—NR—O 和乙 酰肼,使得 ICT 效应增强,从而导致体系荧光强度 增强。该探针的检测限低至 2×10⁻⁷ mol/L,在其 他各种常见离子的存在下,探针 IS—NR—NH 对 N₂H₄ 表现出特异性识别能力。另外,该探针拥有 良好的细胞通透性,而且近红外发射波长和较大 的 Stokes 位移使得该探针具有在生物细胞内识别 N₂H₄ 的显著优势,为新型近红外荧光生物传感器 设计提供了一种新的思路。

参考文献:

- [1] 王虎.水合肼化学还原硫酸铜制备纳米铜粉的研究[J].功能材料,2019,50(7):7066-7070.
- [2] 李闯,蔡理,李伟伟,等.水合肼还原的氧化石墨烯吸附 NO₂ 的实验研究[J].物理学报,2019,68(11): 257-262.
- [3] 金秀彦. 掺杂型碳材料在水合肼燃料电池中的研究 进展[J]. 科技创新导报,2018,15(11):90-92.
- [4] WANG H, WANG T Z, WANG Q, et al. Atomically dispersed semimetallic selenium on porous carbon membrane as an electrode for hydrazine fuel cells [J]. Angewandte chemie international edition, 2019, 131 (38):13600-13605.
- [5] 郑炎焱,姚琼,杨晓凯,等.水合肼中毒致神经系统损伤 5 例分析[J].浙江医学,2019,41(11):1218-1220.

- [6] 王金金, 戚少龙, 杜建时, 等. 苯并噻唑类荧光探针的 合成及对 N₂H₄ · H₂O 和 HSO₃⁻的检测性能[J]. 高等 学校化学学报, 2019, 40(7):1397-1404.
- [7] 胡平,赵世民. 糠醛衍生化-气相色谱(NPD)法测定水 中水合肼[J]. 地球与环境,2017,45(2):242-246.
- [8] 汪万强,崔莉娟,牛顿,等. 铁氰化铜/Nafion/g-C₃N₄ 复合修饰电极的制备及电催化检测水合肼[J]. 食品 科学,2018,39(14):311-316.
- [9] ZHANG J,GAO W,DOU M, et al. Nanorod-constructed porous Co₃O₄ nanowires: highly sensitive sensors for the detection of hydra-zine[J]. Analyst, 2015, 140(5): 1686-1692.
- [10] 邢书才,杨永,岳亚萍.分光光度法测定水合肼分析 方法的优化性研究[J].应用化工,2019,48(10): 2521-2524.
- [11] 刘波,谭艳红,胡清华,等. 基于萘基团的 Zn²⁺"关-开"荧光探针[J]. 南华大学学报(自然科学版), 2019,33(3):94-100.
- [12] 田韫琪,周鹏飞,苏伟,等.罗丹明6G 酰肼 Hg²⁺荧光 探针及细胞成像应用[J].化学研究与应用,2017, 29(4):551-554.
- [13] 张琪,高潮,梁焕如,等.一种检测水合肼荧光探针的 合成与应用[J].分析测试学报,2017,36(7): 937-940.
- [14] 侯鹏,董玉晶,李爽,等.荧光增强型水合肼香豆素荧光 探针的合成与应用[J]. 分析试验室,2017,36(10): 1206-1209.
- [15] LIU B, LIU Q, SHAH M, et al. Fluorescence monitor of hydrazine in vivo by selective deprotection of flavonoid [J]. Sensors and actuators B-chemical, 2014, 202(31): 194-200.
- [16] CHOI M G, MOON J O, BAE J, et al. Dual signaling of hydrazine by selective deprotection of dichlorofluorescein and resorufin acetates [J]. Organic & biomolecular chemistry, 2013, 11(18):2961-2965.
- [17] 卢伟健,张颖,蒋艳云,等. 高灵敏度水合肼荧光探针的合成与应用[J]. 分析试验室,2018,37(11): 1294-1298.
- [18] 季煜新,张一,李子成,等.一种半菁类荧光探针的合成及其对水合肼的识别[J].分析试验室,2019,38 (11):1348-1352.
- [19] CUI L, PENG Z X, JI C F, et al. Hydrazine detection in the gas state and aqueous; solution based on the Gabriel mechanism and its imaging in living cells[J]. Chemical communications, 2014, 50(12):1485-1487.
- [20] RAJU M V R, PRAKASH E C, CHANG H C, et al. A facile ratiometric fluorescent chemodosimeter for hydrazine based on Ing-Manske hydrazinolysis and its applica-tions in living cells[J]. Dyes and pigments,2014,103:9-20. (下转第96页)

- [26] FUKUMA M, SETO Y, YAMASE T. In vitro antiviral activity of polyoxotungstate (PM-19) and other polyoxometalates against herpes simplex virus [J]. Antiviral research, 1991, 16(4):327-339.
- [27] IKEDA S, NISHIYA S, YAMAMOTO A, et al. Activity of the Keggin polyoxotungstate PM-19 against herpes simplex virus type 2 infection in immunosuppressed mice: role of peritoneal macrophage activation [J]. Journal of medical virology, 2010, 41(3):191-195.
- [28] QI Y F,ZHANG H, WANG J, et al. In vitro anti-hepatitis B and SARS virus activities of a titanium-substitutedheteropolytungstate [J]. Antiviral research, 2012, 93 (1):118-125.
- [29] WANG J,LIU Y,XU K, et al. Broad-spectrum antiviral property of polyoxometalate localized on a cell surface [J]. Acs applied materials & interfaces, 2014,6(12): 9785-9789.
- [30] WANG S,SUN W,HU Q,et al. Synthesis and evaluation of pyridinium polyoxometalates as anti-HIV-1 agents
 [J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2017,27 (11):2357-2359.
- [31] WANG X L, WANG J, ZHANG W M, et al. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 entry by a keggin polyoxometalate[J]. Viruses, 2018, 10(5):265.
- [32] WANG L, YANG W T, ZHU W, et al. A nanosized { Ag
 @ Ag₁₂ } "Molecular Windmill" templated by polyoxometalates anions [J]. Inorganic chemistry, 2014, 53 (21):11584-11588.
- [33] LU X X, LUO Y H, LU C, et al. Assembly of three new POM-based Ag(1) coordination polymers with antibacterial and photocatalytic properties [J]. Journal of solid state chemistry, 2015, 232(1):123-130.
- [34] HU T, LI Y H, KUANG X F, et al. Synthesis and characterization of polyoxometalate-based silver(I) phenylethynide compounds with antibacterial and antifungal activities[J]. CrystEngComm, 2017, 19(25):3445-3454.
- [35] XING R, WANG F, DONG L, et al. Inhibitory effects of

(上接第89页)

- [21] HAO Y Q, ZHANG Y T, RUAN K H, et al. A highly selective long-wavelength fluorescent probe for hydrazine and its application in living cell imaging [J]. Spectrochimica acta part a-molecular and biomolecular spectroscopy,2017,184(5):355-360.
- [22] GUO Z Q, PARK S, YOON J, et al. Recent progress in the development of near-infrared fluorescent probes for bioimaging applica-tions[J]. Chemical society reviews, 2014,43(1):16-29.

 $Na_7 PMo_{11} CuO_{40}$ on mushroom tyrosinase and melanin formation and its antimicrobial activities [J]. Food chemistry, 2016, 197:205-211.

- [36] PIVA R H, ROCHA M C, PIVA D H, et al. Acidic dressing based on agarose/Cs_{2.5}H_{0.5}PW₁₂O₄₀ nanocomposite for infection control in wound care [J]. ACS applied materials & interfaces, 2018, 10(37):30963-30972.
- [37] ZHANG Y N, ZHANG D J, ZHANG J Y, et al. Synthesis, characterization and antibacterial properties of two POM-based supramolecular compounds with the natural active ingredient: $(THB)_3(H_5PMo_{12}O_{40})$ and $(THB)_3(H_3PW_{12}O_{40})$ [J]. Inorganic chemistry communications, 2016, 74:6-11.
- [38] MARIA B S,GARZA L F P,GAUTAM B,et al. Synthesis and biological activity of organoantimony (III)-containing heteropolytungstates [J]. Inorganic chemistry, 2012, 51 (21):12015-12022.
- [39] YANG P, BASSIL B S, LIN Z G, et al. Organoantimony (III)-containing tungstoarsenates (III): From controlled assembly to biological activity[J]. Chemistry-a european journal, 2015, 21 (44): 15600-15606.
- $\begin{bmatrix} 40 \end{bmatrix} \text{ YANG P, LIN Z G, BASSIL B S, et al. Tetra-antimony} \\ (III)-bridged 18-tungsto-2-arsenates (V), <math display="block"> \begin{bmatrix} (LSb^{II})_4 (A-\alpha As^VW_9O_{34})_2 \end{bmatrix}^{10^-} (L = Ph, OH): turning bioactivity on and off by ligand substitution [J]. Inorganic chemistry, 2016,55(8):3718-3720.$
- [41] PENG Y, LIN Z G, ALFAROESPINOZA G, et al. 19tungstodiarsenate(III) functionalized by organoantimony (III) groups:tuning the structure-bioactivity relationship [J]. Inorganic chemistry,2016,55(1):251-258.
- [42] LIU H,ZOU Y L,ZHANG L, et al. Polyoxometalate cobalt-gatifloxacin complex with DNA binding and antibacterial activity[J]. Journal of coordination chemistry, 2014,67(13):2257-2270.
- [43] LI L,SHA J Q,ZONG X M, et al. Study on the Keggin zinctungstates based hybrid compound with like DNA spiral chain [J]. Journal of molecular structure, 2014, 1064(1):94-99.

(责任编辑:周泉)

- [23] LIU J W, YIN Z. A novel NIR-emissive probe with large Stokes shift for hypochlorite detection and imaging in living cells[J]. Talanta, 2019, 196(1):352-356.
- [24] HU Q H, HUANG Q X, MAO Y, et al. A near-infrared large Stokes shift probe based enhanced ICT strategy for F⁻ detection in real samples and cell imaging[J]. Tetrahed-ron, 2019, 75 (51):130762.

(责任编辑:扶文静)