

特约稿

基于罗丹明螺环衍生物的荧光探针研究进展

张晓兵¹, 龚毅君², 苏 莉², 毛国江²

(1. 分子科学与生物医学实验室, 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南大学化学化工学院, 湖南 长沙 410082)

(2. 河南师范大学化学化工学院, 河南 新乡 453007)

[摘要] 罗丹明螺环衍生物在目标物的诱导下可发生螺环的开关并导致荧光信号的改变, 利用该原理构建荧光探针成为传感领域的研究热点. 在过去的 10 多年中, 大量文献报道了基于罗丹明螺环衍生物的荧光探针用于多种目标物的检测, 如金属离子 (Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Ag^{+} 、 Au^{+} 、 Pb^{2+} 和 Pd^{2+})、阴离子 (OCl^{-} 、 CN^{-} 和 $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$)、活性氧簇/活性氮簇、硫醇类化合物、pH 值以及温度等等. 本综述将分类探讨已报道的罗丹明荧光探针的响应机理, 并介绍其在生物分析方面的初步应用研究.

[关键词] 罗丹明, 荧光探针, 螺环衍生物, 反应型探针, 配位型探针

[中图分类号] O657.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2015)02-0001-16

Fluorescent Probes Based on Rhodamine Spirocyclic Derivatives

Zhang Xiaobing¹, Gong Yijun², Su Li², Mao Guojiang²

(1. Molecular Science and Biomedicine Laboratory, State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

(2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Spirocyclic derivatives of rhodamine dyes have been proven to be useful fluorescence sensing platforms, since the target-triggered ring-opening process of the spirocycle could result in turn-on fluorescence response. In the past ten years, a large number of rhodamine spirocyclic derivative-based fluorescent probes have been developed, with the analytic targets including various metal ions (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Ag^{+} , Au^{+} , Pb^{2+} , and Pd^{2+}), anions (OCl^{-} , CN^{-} , and $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), reactive oxygen/nitrogen species, thiols, pH values, temperatures, etc. This review will introduce the response mechanisms of previously reported rhodamine spirocyclic probes, as well as their bioanalysis applications.

Key words: rhodamine, fluorescent probe, spirocyclic derivative, coordination-type probe, reaction-type probe

生物体内的金属离子、阴离子、活性氧簇和氮簇、氨基酸、以及 pH 值等均有着重要的生理功能, 在生命活动中发挥着至关重要的作用. 因此, 准确、实时地监控上述被分析对象在生物体内分布情况和浓度变化, 对于跟踪研究生物体的各种生理、病理变化, 以及疾病的早期诊断具有非常重要的意义. 基于有机荧光探针的荧光生物成像技术具有灵敏度高、分辨率高、对待测样品无损以及可实现原位、实时、快速检测等优点, 可在亚细胞层面上对细胞微结构进行观测, 进而实现生物体内被分析对象的荧光成像^[1-6].

荧光探针的设计主要是通过探针(主体)和目标物(客体)之间的相互作用而引起探针结构的变化, 从而导致探针荧光性质的改变来实现的. 根据主、客体间的作用类型可将荧光探针分为反应型荧光探针和配位型荧光探针. 如图 1 所示, 当主、客体间的作用为不可逆的化学反应时, 该荧光探针为反应型荧光探针^[1-3]; 当主、客体间的作用为可逆的非共价结合(或称为配位)时, 该荧光探针为配位型荧光探针^[4-6]. 其中配位型荧光探针易于受环境因素的干扰.

近年来, 由于荧光探针技术的诸多优点, 有机小分子荧光探针在荧光成像方面的应用得到了越来越多

收稿日期: 2014-09-16.

基金项目: 国家自然科学基金(21325520、J1210040、21177036)、湖南省自然科学基金(11JJ1002).

通讯联系人: 张晓兵, 教授, 博导, 杰出青年基金获得者, 研究方向: 有机小分子荧光探针. E-mail: xzbzhang@hnu.edu.cn

的关注,吸引了众多学者参与研究. 其中,罗丹明染料独特的螺环结构,使得基于罗丹明类染料构建的荧光探针获得了迅速的发展,并在该领域占有了非常重要的地位. 在本综述中,我们将罗丹明螺环衍生物荧光探针分为反应型和配位型两大类,并论述其中部分探针的响应机理及其在荧光成像中的应用进展.

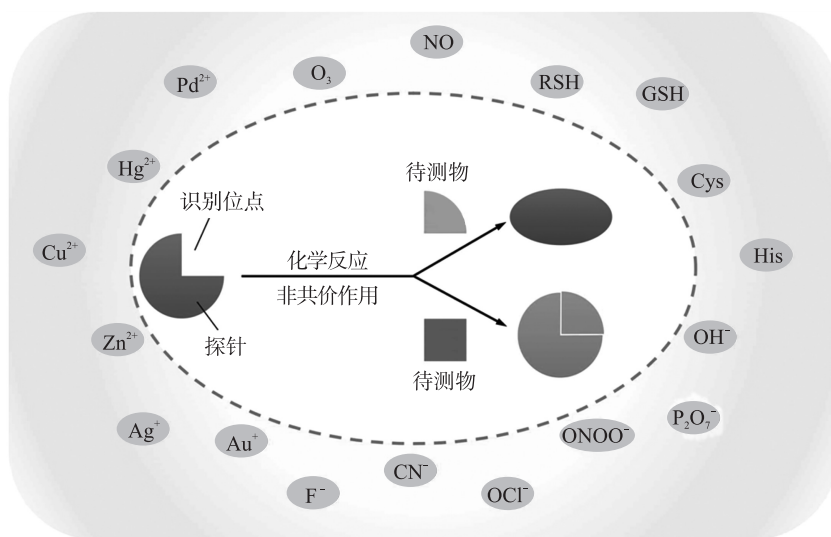


图 1 荧光探针对目标物的响应机理:反应型(椭圆)和非共价结合配位型(圆)

Fig. 1 The response mechanisms of fluorescence probes to target: the target triggers a chemical reaction of the probe (ellipse), and the probe binding with the target through a non-covalent coordination (circle)

1 罗丹明类染料

罗丹明衍生物是有机小分子探针领域中应用最广泛的一类染料,罗丹明 6G 和罗丹明 B 具有摩尔吸光系数大、荧光量子产率高以及光稳定性较好等优点^[7,8] (分子结构见图 2). 如图 3 所示,目标物与罗丹明类荧光探针的特异性反应或非共价结合可诱导罗丹明内酰胺螺环的开关,引起荧光信号的 off-on 变化,从而实现对目标物的荧光检测,该机理已广泛应用于罗丹明类小分子荧光探针的设计.

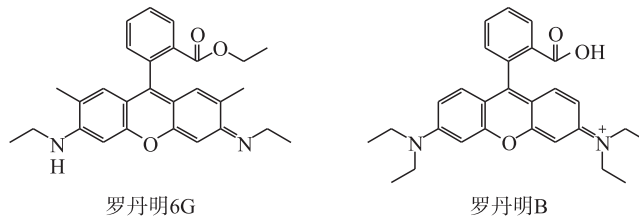


图 2 罗丹明 6G 和罗丹明 B 的结构

Fig. 2 Molecular structures of rhodamine 6G and rhodamine B

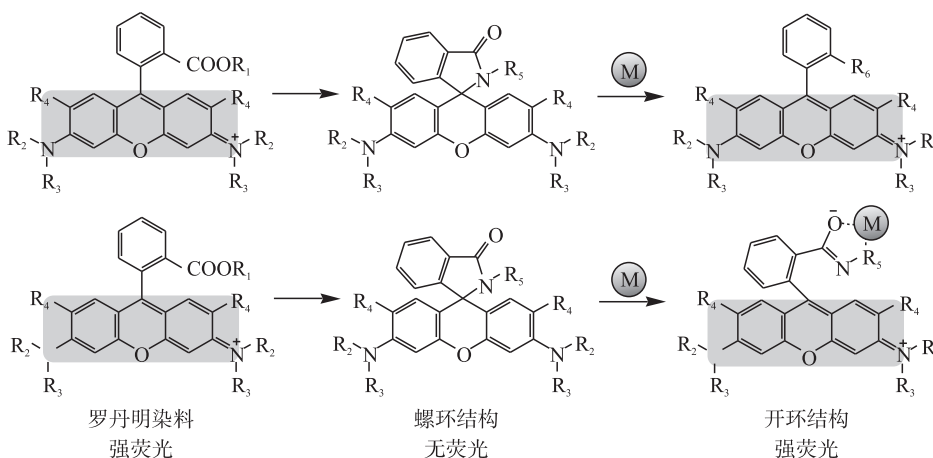


图 3 目标物诱导罗丹明螺环开闭的荧光探针:催化反应开环(上)和非共价结合开环(下)

Fig. 3 Spirolactam ring-opening process of rhodamine probes: the analyte catalyzes a chemical reaction of the probe (top), with the probe binding with the target through a non-covalent coordination (bottom)

2 罗丹明类反应型荧光探针

罗丹明类反应型荧光探针的设计大多通过金属离子、阴离子或小分子和探针发生不可逆化学反应,作用于内酰胺螺环并发生催化环化或水解反应等,诱导罗丹明螺环的打开,使荧光得到恢复.该过程可用于构建 off-on 型荧光探针.本节将选取部分代表性的反应型荧光探针进行详细论述.

2.1 检测 Cu^{2+}

铜元素是人体内第三大微量元素,在诸多生理过程中扮演着至关重要的角色.人体摄入铜过量会导致威尔森氏症、肠胃失调和肾脏损伤等疾病^[9],因此对铜离子实现高灵敏检测具有重要的意义.近些年发表了许多用于检测 Cu^{2+} 的反应型荧光探针.

1997 年 Czarnik 小组报道了一个反应型荧光探针罗丹明酰肼 1 用于检测水溶液中的 Cu^{2+} ^[10].如图 4 所示, Cu^{2+} 可选择性地识别罗丹明酰肼发生配位,进一步催化酰肼水解,还原为具有强荧光的罗丹明 B,从而实现荧光的恢复.实验结果表明该探针可在 2 min 内检测出 10 nmol/L 的 Cu^{2+} .

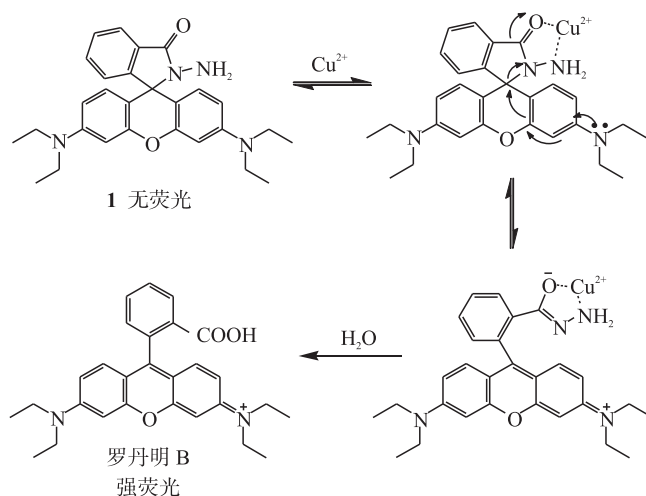


图 4 Cu^{2+} 催化罗丹明酰肼 1 水解

Fig. 4 Cu^{2+} -catalyzed hydrolysis of rhodamine B hydrazide 1

2007 年童爱军小组报道了一个罗丹明酰肼和 N,N-二甲氨基苯甲醛的腙化合物 2^[11].反应前,该探针在 515 nm 有绿色荧光, Cu^{2+} 诱导化合物 2 发生环化反应并打开内酰胺螺环,生成化合物 3,并发出 585 nm 的红色荧光.

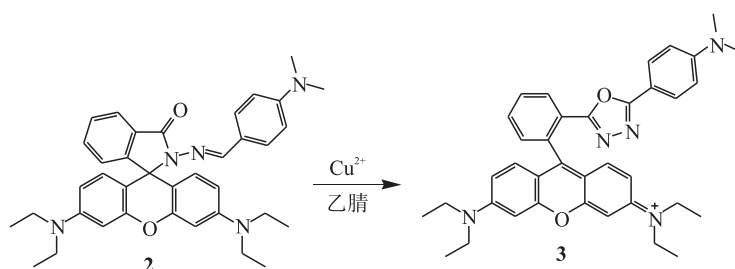


图 5 Cu^{2+} 催化罗丹明反应型探针 2 环化

Fig. 5 Cu^{2+} -catalyzed cyclization of reaction-based probe 2

2008 年,李富友小组报道了一个罗丹明 B 的硫脲衍生物 4^[12],该化合物在 Cu^{2+} 的催化作用下发生水解生成强荧光的罗丹明 B,实现了对 Cu^{2+} 的快速、高灵敏度检测,该工作还实现了细胞内 Cu^{2+} 的荧光成像检测,在 HeLa 和 MCF-7 细胞中对不同浓度的 Cu^{2+} 均得到了较好的单光子激光和双光子激光共聚焦成像效果.

由于 Cu^{2+} 催化酰肼水解反应有着较好的特异性和灵敏度,在 Czarnik 的工作的基础上,林伟英小组^[13]和彭孝军小组^[14]分别在罗丹明酰肼分子的基础上引入了荧光能量给体,构建了基于荧光共振能量转移比

率型(FRET)的荧光探针 5、6. 当不存在 Cu^{2+} 时,探针分别发射出各自给体的荧光,加入 Cu^{2+} 后可催化罗丹明酞肼水解,诱导能量转移,发出罗丹明的荧光. 上述两个工作实现了 Cu^{2+} 的比率型检测,并进行了初步的生物应用研究,实现了细胞中 Cu^{2+} 的比色成像.

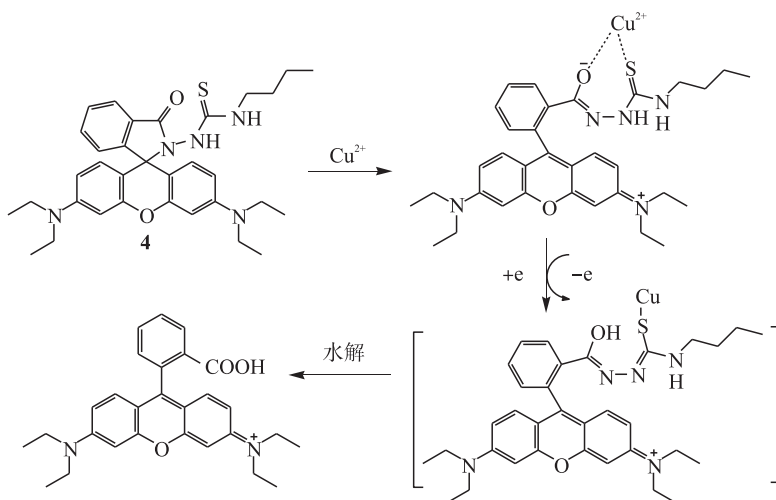


图 6 Cu^{2+} 催化罗丹明反应型探针 4 水解

Fig. 6 Cu^{2+} -assisted hydrolysis of reaction-based probe 4

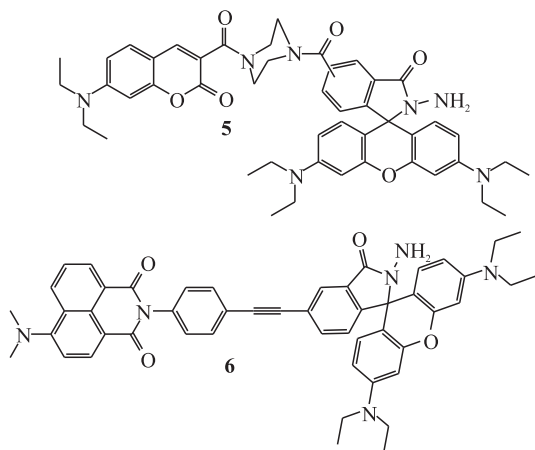


图 7 罗丹明与不同荧光给体配对的 Cu^{2+} 荧光探针

Fig. 7 Cu^{2+} reaction-based probes based on Rhodamine B and various fluorescence donors

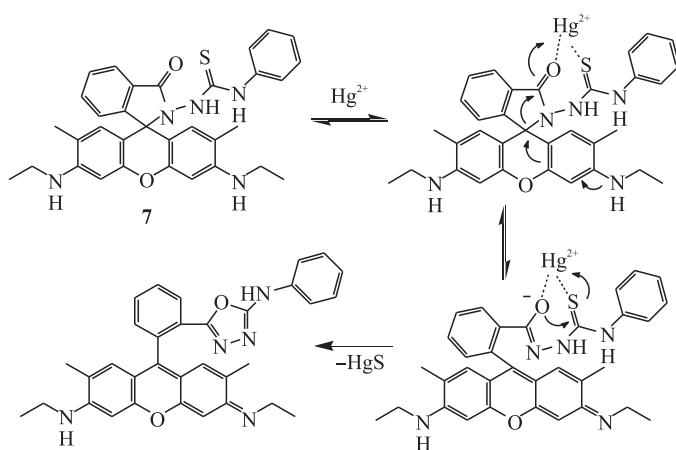


图 8 Hg^{2+} 催化罗丹明探针 7 环化反应

Fig. 8 Hg^{2+} -assisted cyclization of reaction-based probe 7

2.2 检测 Hg^{2+}

汞元素因其剧毒性,对环境水体以及生命体造成威胁,美国环境保护署(U.S.EPA)限定饮用水中的无机汞浓度不得超过 2×10^{-9} [15]. 如何高效、灵敏地检测痕量汞吸引了越来越多的关注,大量的研究工作致力于汞元素的荧光检测新方法的建立.

探针 1 被报道可用于检测 Cu^{2+} 后,Chang 等人又报道了该探针在 $\text{pH} = 5$ 的乙酸缓冲溶液中对 Hg^{2+} 有着较好的响应 [16]. 该探针对 Hg^{2+} 的响应机理和 Cu^{2+} 一样,均为催化罗丹明酞肼水解生成强荧光的罗丹明 B.

Hg^{2+} 具有极强的嗜硫性,易于结合 $\text{C}=\text{S}$ 双键上的 S 原子并生成稳定的 HgS . 基于这一特性,许多工作报道了含 S 原子的 Hg^{2+} 探针. 2005 年,利用 Hg^{2+} 特异性催化硫代碳酸二胍生成 1,3,4-恶二唑的反应,Tae 小组报道了 Hg^{2+} 荧光探针 7 [17]. 该探针引入硫代碳酸二胍作为识别基团, Hg^{2+} 进攻 S 原子,发生催化环化反应生成具有强荧光的恶二唑产物. 该探针具有非常好的选择性和检测灵敏度,检测限为 1×10^{-9} .

彭孝军小组利用 Hg^{2+} 特异性催化异丙酯水解的反应,将异丙酯改进为罗丹明酞肼双席夫碱结构,构建了荧光探针 8 [18]. 相比于其他一些 Hg^{2+} 探针,该探针检测灵敏度达到了 10^{-9} 量级,并且能够避免

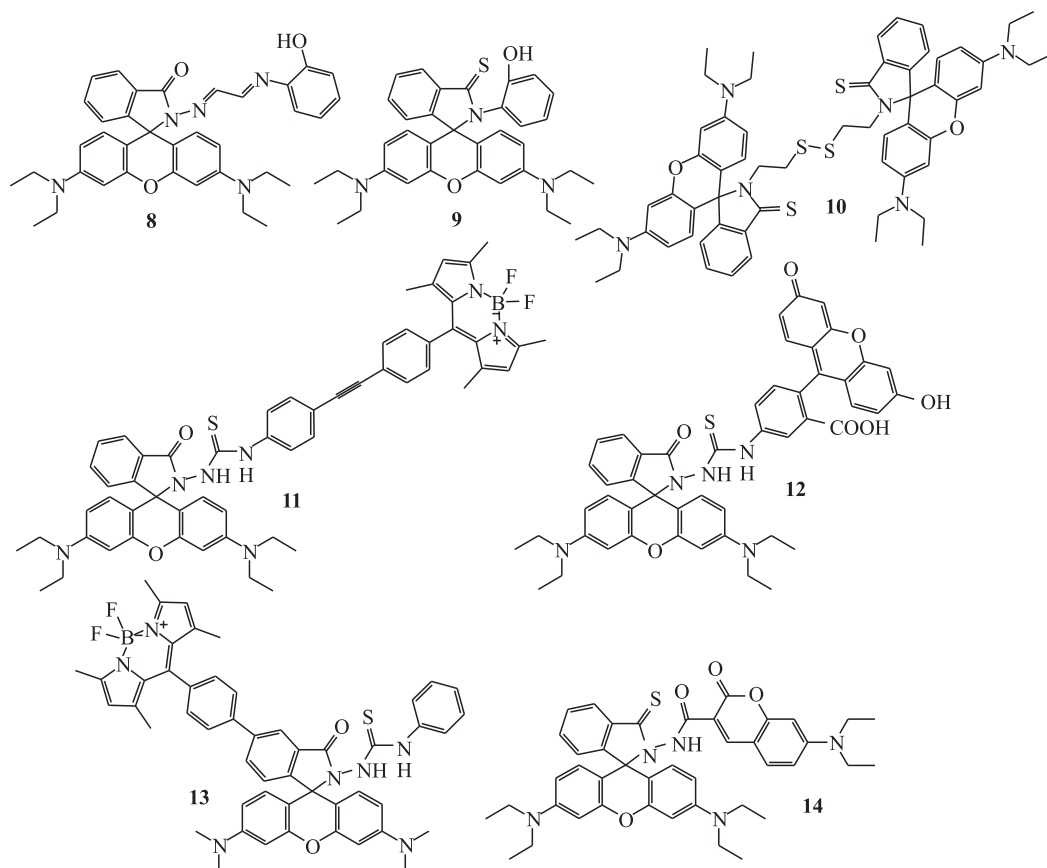

 图9 罗丹明反应型 Hg^{2+} 荧光探针

 Fig. 9 Reaction-based fluorescent probes for Hg^{2+}

生理基质内含 S 元素化合物对 Hg^{2+} 检测的干扰.

将罗丹明内酰胺螺环上的 O 原子替换为 S 原子,其他小组利用 Hg^{2+} 催化脱硫环化过程构建了探针 9^[19]、10^[20]. 这些探针具有灵敏度高、选择性好等优点,并可用于细胞内的 Hg^{2+} 荧光成像. 将含 S 原子结构作为识别基团,通过引入不同的荧光基团作为荧光能量给体,构建了能量转移比率型荧光探针 11^[21]、12^[22]、13^[23]、14^[24],这些探针用于细胞中 Hg^{2+} 的比率型成像检测,结果令人满意.

2.3 检测 Fe^{3+}

Fe^{3+} 是生理环境中最重要的过渡金属离子,Fe 元素是许多酶促反应的辅助因子,参与血红素运载氧,并在细胞新陈代谢等诸多生理过程中发挥着至关重要的作用. Kim 等人报道了一个二硝基苯胺的罗丹明衍生物 15^[25],该衍生物含有席夫碱结构. 作为一个强路易斯酸, Fe^{3+} 可以选择性地结合探针 15,促使席夫碱的水解并使罗丹明开环,荧光得到增强.

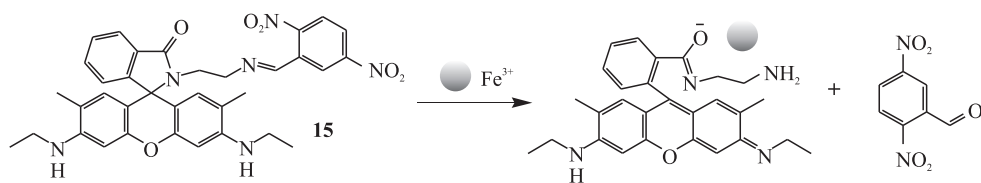

 图10 罗丹明反应型 Fe^{3+} 荧光探针

 Fig. 10 Reaction-based probe for Fe^{3+}

2.4 检测 Ag^+

AgI 溶度积小, Ag^+ 可高效地进攻端基的取代碘生成 AgI 沉淀. 利用这一原理,Ahn 小组巧妙地设计了一个含有端基碘的罗丹明荧光探针 16^[26]. 在含有 20% 乙醇的水溶液中, Ag^+ 进攻端基碘生成 AgI ,酰胺上的 O 原子随即进攻 α 位 C 原子形成噁啉环,此不可逆过程诱导罗丹明内酰胺螺环的打开以及荧光恢复.

该探针有非常好的选择性,检测下限达到 14×10^{-9} .

马会民小组将 Se 原子取代罗丹明内酰胺螺环的 N 原子,构建了 Se 取代的荧光探针 17^[27]. 由于 Hg^{2+} 和 Ag^+ 均可强烈地结合探针中的 Se 并发生水解,因此该探针可同时检测这两种金属离子. 细胞成像研究表明该探针可成功地实现对细胞内两种离子的成像检测.

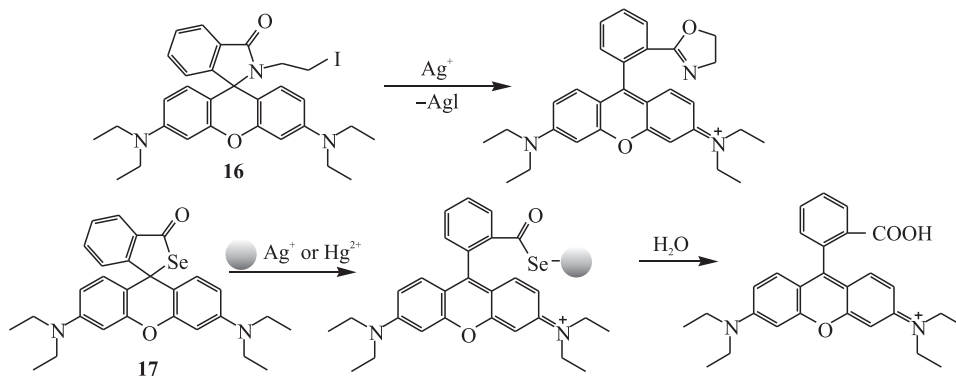


图 11 罗丹明反应型 Ag^+ 荧光探针

Fig. 11 Reaction-based fluorescent probes for Ag^+

2.5 检测 Au 离子

2009 年前后,3 个研究小组分别报道了端基炔键修饰的罗丹明荧光探针 18^[28,29]、19^[30] 用于检测 Au 离子. $\text{Au}(\text{I}, \text{III})$ 离子可迅速识别端基炔键并形成配合物,内酰胺螺环进攻该配合物并环化,荧光得到恢复,上述研究小组还进一步探讨了该类探针在生物应用方面的研究.

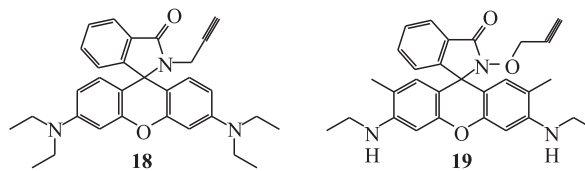


图 12 罗丹明反应型 Au 荧光探针

Fig. 12 Reaction-based fluorescent probes for Au

2.6 检测 Pd 元素

Pd 元素(0, II)作为 Pd 催化反应的药物中间体、以及各类矿石中的常见成分,对它们进行检测有重要意义^[31]. Ahn 研究小组在罗丹明内酰胺螺环的邻位引入了 Pd 元素敏感的芳香碘结构,构建了可特异性检测 Pd 元素的探针 20^[32]. 在 85 °C 条件下, Pd(0) 对芳香碘进行氧化加成,酰胺随即进攻 Pd,随着 Pd 的还原消除,最终生成一个带有苯并恶唑基团的强荧光物质 21,该过程使得罗丹明内酰胺螺环被打开,荧光得到恢复.

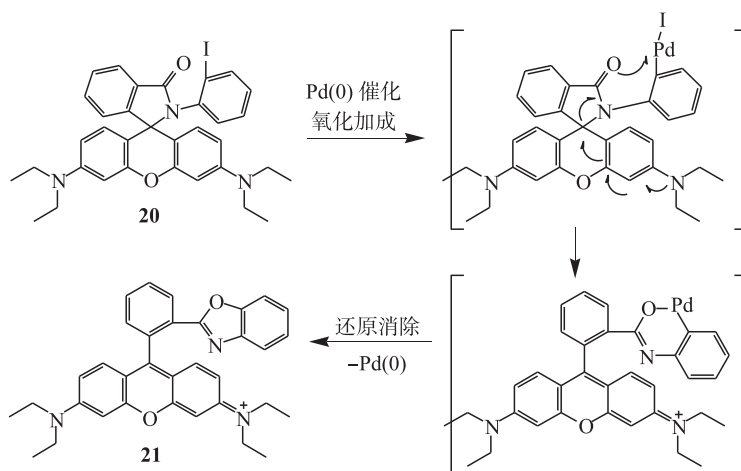


图 13 Pd 元素催化环化反应的罗丹明反应型探针 20

Fig. 13 Pd-assisted cyclization of reaction-based probe 20

2.7 检测 OCI^-

活性氧簇(ROS)和活性氮簇(RNS)在许多生理和病理过程中扮演着极其重要的角色,参与癌症和神

经衰退的相关生理反应. 高灵敏度、高选择性的对体内 ROS 和 RNS 进行实时检测,有助于监控它们在体内的产生和分布,并探索它们的生理功能.

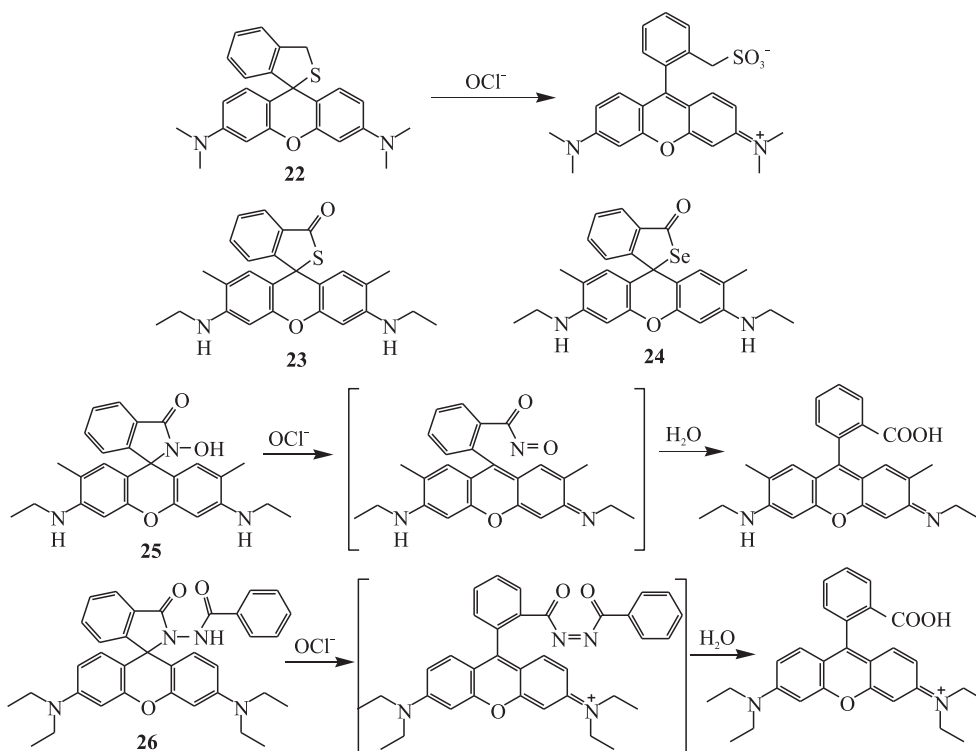


图 14 罗丹明反应型 OCl^- 荧光探针

Fig. 14 Reaction-based fluorescent probes for OCl^-

次氯酸(HOCl)和次氯酸根(OCl^-)在生理 pH 值下保持着浓度的平衡. 正常浓度的 HOCl 可以有效地防止微生物的入侵,然而 HOCl 浓度的变化会导致一些疾病. Nagano 小组合成了一个可用于检测 HOCl 的硫醚螺环的四甲基罗丹明探针 22^[33]. 探针中的硫醚基团可被 HOCl 氧化为磺基,同时硫醚螺环被打开,荧光得到恢复. 随后 S 元素螺环探针 23 和 Se 元素螺环探针 24 也被发现可选择性地被 HOCl 氧化,并使探针的荧光得到恢复^[34]. 一些常见的 ROS 和 RNS(H_2O_2 , $\text{NO}\cdot$, $\cdot\text{OH}$, $\text{ROO}\cdot$, ONOO^- , $^1\text{O}_2$, 以及 $\text{O}_2\cdot^-$)对该探针检测 HOCl 无明显干扰,该探针也被初步用于生物成像应用研究,结果令人满意.

Tae 小组发展了一个结构简单的羟胺螺环荧光探针 25^[35],探针中的羟胺可被 HOCl 氧化并随之水解,探针还原为罗丹明 6G,荧光得到恢复. 该探针对于 HOCl 的检测具有很好的选择性和灵敏度,检测限达到了 25 nmol/L. 探针用于细胞中不同浓度的 HOCl 成像,获得了明显的浓度梯度成像结果. 马会民小组开发了一个带有双苯酰肼的探针 26^[36],该探针可选择性地被 HOCl 氧化并水解,使得其荧光信号得到显著增强.

2.8 检测 NO

NO 也是生理体系内常见的生物小分子,和一些重要的生理和病理过程密切相关. 利用 NO 能够特异性识别邻苯二胺这一特性,许金钩小组报道了一个罗丹明键连邻苯二胺的荧光探针 27^[37]. 该探针邻苯二胺中的伯胺可被 NO 重氮化,随之与酰胺生成苯并三唑,从而打开罗丹明内酰胺螺环,最后水解为罗丹明 B. 该反应具有很高的特异性,常见的 ROS 和 RNS 基本无干扰. 段春迎小组报道了一个 $\text{Cu}(\text{II})$ 离子配位多 N 原子配体的荧光探针 28^[38],NO 对内酰胺螺环上的 N 原子进行硝化,促使罗丹明开环发射出荧光. 同时 $\text{Cu}(\text{II})$ 被还原为 $\text{Cu}(\text{I})$,从而使配合物解离.

2.9 检测半胱氨酸 Cys

Cys 是人体内最常见的一种氨基酸. 因其和高半胱氨酸 Hcy 以及谷胱甘肽 GSH 都含有一个巯基活性基团,使得它们具有相似的化学性质,因此这三者通常会严重干扰彼此的检测. 彭孝军小组发展一个乙二醛缩合罗丹明 6G 酰肼的荧光探针 29^[39],探针与 Hcy 结合后可以形成稳定的螺环化合物 30,荧光没有增强. 探针与 Cys 结合形成一个含有噻唑环的中间体 31,该中间体的螺环可被打开并水解为罗丹明 6G,荧光

得到显著增强,从而实现高选择性检测 Cys.

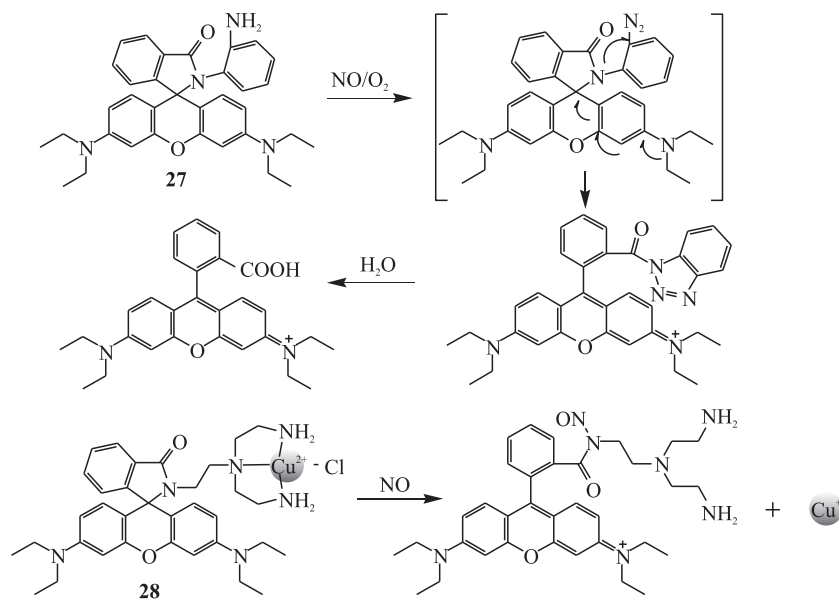


图 15 罗丹明反应型 NO 荧光探针

Fig. 15 Reaction-based fluorescent probes for NO

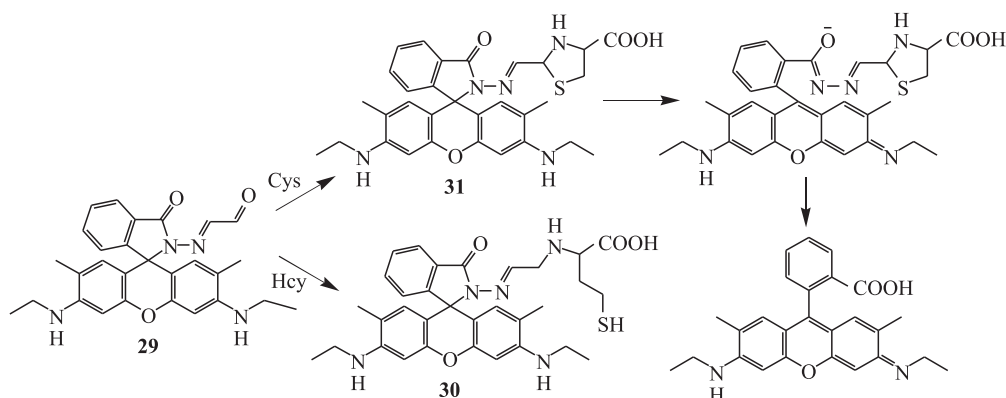


图 16 区别 Hcy 的 Cys 罗丹明反应型探针

Fig. 16 Reaction-based probe for cysteine; discrimination from homocysteine

2.10 检测有机磷

有机磷酸酯是神经毒气的活性成分,能够将人体内的乙酰胆碱酯酶(AchE)磷脂化,生成难以水解的磷酸化胆碱酯酶,使胆碱酯酶失去其催化活性,最终导致神经性肌肉瘫痪甚至死亡^[40]. 由于涉及到公共安全,对这一类有机磷酸酯的检测显得尤为必要. 韩守法小组发现和化合物 25 近似的探针 32^[41],能够选择性地识别氯磷酸二乙酯,通过共价交联以及水解反应,最终生成具有强荧光的产物.

2.11 检测光气

光气,也称为碳酰氯,是一种窒息性剧毒气体,人若吸入高浓度的光气可导致肺水肿. 韩守法小组报道了一个新颖的罗丹明荧光探针 33^[42],该探针去除了螺环上的羰基,可选择性的识别光气并发生环化反应,诱导罗丹明螺环的打开而发射出荧光.

3 配位型荧光探针用于目标物的检测

通过非共价结合(配位)构建的配位型罗丹明荧光探针,由于需要对内酰胺螺环部位进行配位,使得该类探针的检测对象多为阳离子,本节主要选取一些阳离子探针进行详细论述.

3.1 检测 Hg²⁺

Yoon 等人发展了两个罗丹明衍生物 34 和 35^[43],该探针分别利用巯基和羧基作为识别基团,对 Hg²⁺

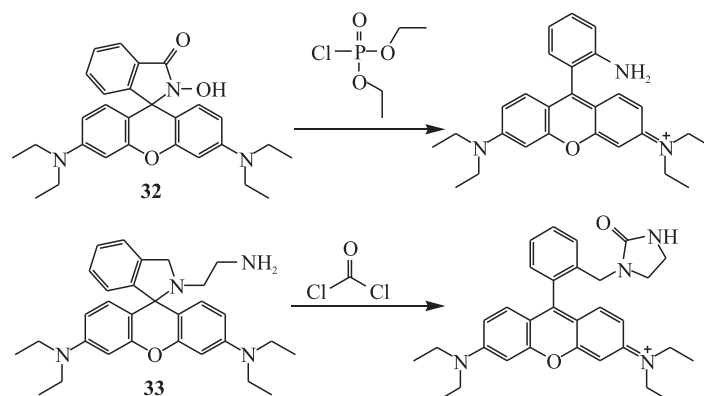


图 17 检测氯磷酸二乙酯和光气的罗丹明反应型荧光探针

Fig. 17 Reaction-based fluorescent probes for diethyl chlorophosphate and phosgene

表现出荧光增强和比色响应. 段春迎等人将吡啶醛与罗丹明酰肼进行缩合构建了一个席夫碱探针 36^[44], 相比于其他常见金属离子, 该探针对 Hg^{2+} 表现出高特异性荧光增强, 通过 Job 法确定探针对 Hg^{2+} 为 2:1 的配位比. Shiraishi 等人将四氮杂 12-冠-4 引入到罗丹明染料中构建探针 37^[45], 一分子的探针 37 可与两个 Hg^{2+} 进行配位, 一个配位于四氮杂环, 另一个配位到内酰胺螺环使得荧光增强, 最大增强倍数可达 1 700 倍. 利用 Hg^{2+} 的嗜硫性, 钱旭红等人构建了含硫醚结构的探针 38^[46], 该探针可与 Hg^{2+} 迅速发生 1:1 结合并导致 400 倍的荧光增强. 利用二茂铁的信号功能和喹啉的配位功能, 李富友等人报道了一个光学-电化学双信号检测 Hg^{2+} 的探针 39^[47]. 加入 Hg^{2+} 后, 探针体系由无色变为粉红色且荧光得到增强, 电化学氧化峰电位 ($E_{1/2}$) 由 0.40 V 变为 0.15 V. 该探针在细胞成像的初步研究中也获得了令人满意的结果. Das 等人将丹磺酰胺结构和罗丹明 6G 染料连接起来构建了 FRET 探针 40^[48], 该探针对 Hg^{2+} 和 Cu^{2+} 均表现出较好的响应, 其中探针对 Hg^{2+} 有着更好的能量转移效率, 应用于细胞成像研究结果令人满意.

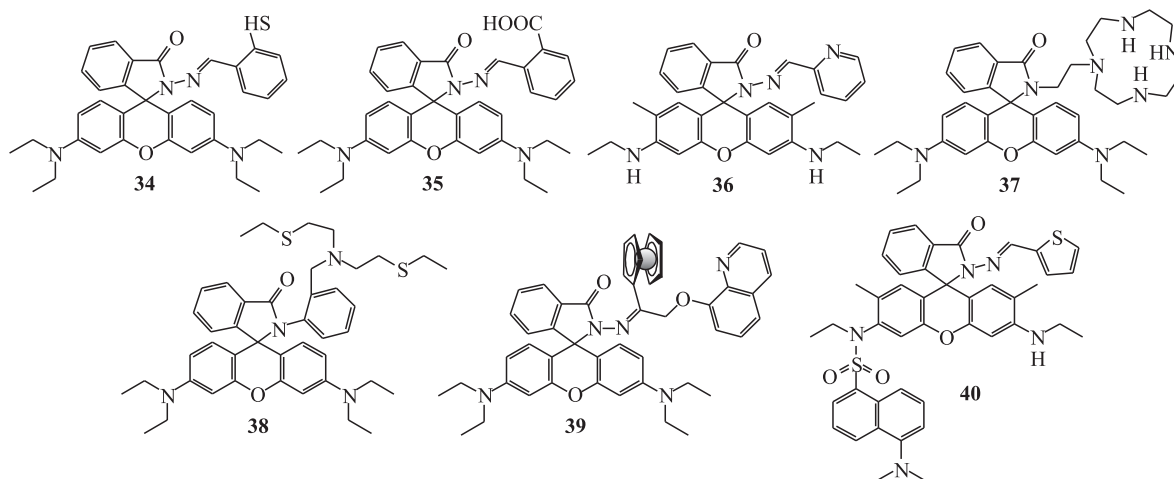

 图 18 罗丹明配位型 Hg^{2+} 荧光探针

 Fig. 18 Coordination-based fluorescent probes for Hg^{2+}

3.2 检测 Cu^{2+}

童爱军首次报道了一个罗丹明酰肼和水杨醛缩合的席夫碱探针 41 用于 Cu^{2+} 的检测^[49]. 该探针极易与 Cu^{2+} 进行配位形成 1:1 金属配合物, 检测下限可达 25 nmol/L. 在探针 36 的基础上, 本小组将其席夫碱 C=N 双键还原为 C—N 单键, 构建了探针 42^[50]. 与探针 36 对 Hg^{2+} 表现出特异性响应不同, 探针 42 表现出对 Cu^{2+} 的高选择性、高灵敏度响应, 检测下限可达 30 nmol/L. 进行了实际水样的加标回收实验和初步的细胞成像研究, 均获得令人满意的结果. Yoon 等人将硼酸基团引入到罗丹明衍生物中, 构建了荧光探针 43, 该探针对 Cu^{2+} 有着较好的选择性, 并可应用于细胞和斑马鱼中 Cu^{2+} 的生物成像研究^[51]. 探针 44^[52] 和 45^[53] 分别将萘酰亚胺染料和丹磺酰胺染料引入到罗丹明分子中. 探针 44 对 Cu^{2+} 表现出比色和荧光增强

双信号响应. 而在探针 45 中加入 Cu^{2+} , 探针体系由丹磺酰胺的绿色荧光变为罗丹明的红色荧光, 荧光发射峰从 507 nm 转移至 574 nm, 实现了对 Cu^{2+} 的比率型检测.

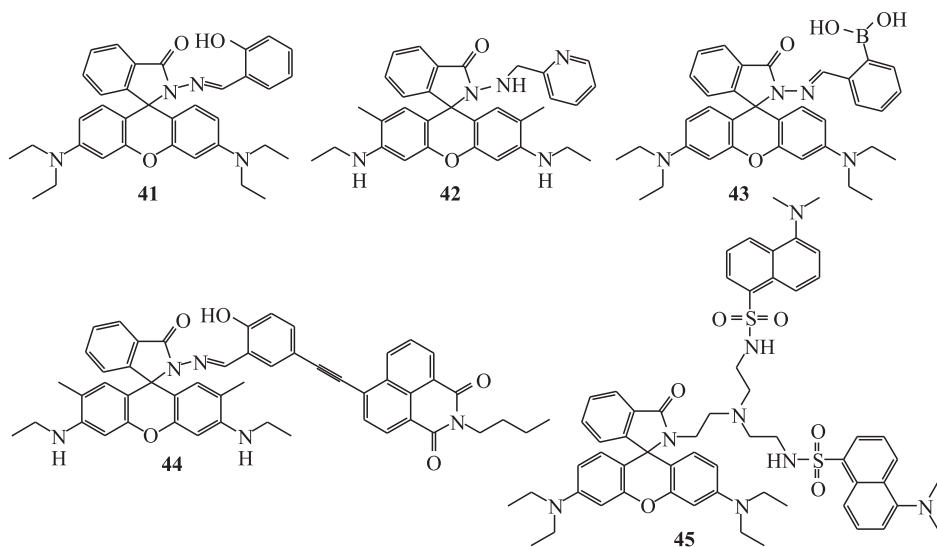


图 19 罗丹明配位型 Cu^{2+} 荧光探针

Fig. 19 Coordination-based fluorescent probes for Cu^{2+}

3.3 检测 Fe^{3+}

童爱军等人报道了 1 个二乙基三胺键连的双罗丹明分子 46^[54], 该分子可与 Fe^{3+} 进行 1:1 配位形成夹心结构, 同时实现了 Fe^{3+} 的裸眼检测和荧光增强检测. 随后刘伟生等人以二乙基三胺键连单个罗丹明分子构建了探针 47^[55], 该探针可与 Fe^{3+} 形成更稳定的 2:1 金属配合物, 因此其对 Fe^{3+} 的检测灵敏度高于 46. 彭孝军等人在探针 48 中引入了 1 个酚结构, 实现了对 Fe^{3+} 的荧光增强型检测^[56].

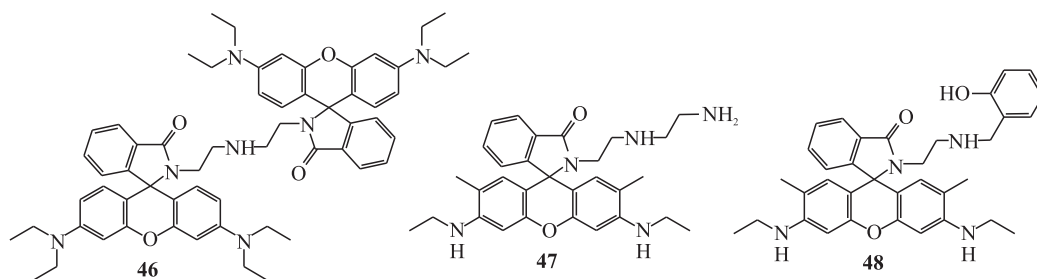


图 20 罗丹明配位型 Fe^{3+} 荧光探针

Fig. 20 Coordination-based fluorescent probe for Fe^{3+}

3.4 检测 Zn^{2+}

Zn 元素是人体内含量排第二的过渡金属元素, 在生命体内诸多生理过程扮演着重要的角色, 同时也与一些病理过程如阿尔茨海默病、小儿腹泻和脑缺血等^[57-59]密切相关, 因此对其实现高选择、高灵敏检测具有重要的生物学意义. Mashraqui 等报道了一个简单的罗丹明探针 49^[60], 相比于其他常见金属离子, 该探针对 Zn^{2+} 具有很好的荧光增强型响应. 本小组报道了一个罗丹明硫代酰胺和荧光素醛缩合的探针 50^[61], 探针分子中虽然存在一个对 Hg^{2+} 敏感的 S 原子, 但对 Zn^{2+} 有着特异性的荧光响应, 而 Hg^{2+} 基本没有干扰. 在缓冲体系中, 该探针对 Zn^{2+} 的检测限可达 40 nmol/L, 并可应用于细胞内 Zn^{2+} 的成像研究.

3.5 检测 Pb^{2+}

Pb 元素是一类有毒金属元素, 可通过食物和饮用水在生命体内富集, 长期受 Pb 金属离子及其盐的影响可导致神经功能损伤(尤其是青少年)和血液、大脑的诸多疾病^[62]. Yoon 等人报道了一个含有双吡啶甲基亚胺配体的罗丹明探针 51^[63], 该探针的双吡啶甲基亚胺配体可较好地配位 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 等金属离子. 其中仅 Pb^{2+} 可高效率地打开内酰胺螺环并引发荧光增强. 胡志强和刘树峰等人报道的探针 52^[64], 在乙腈

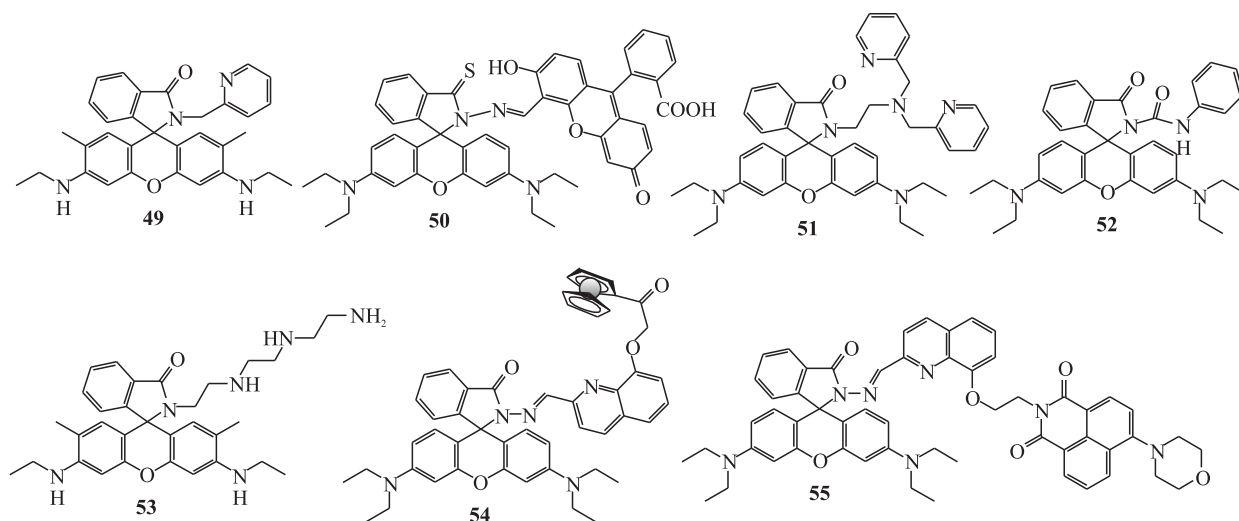

 图 21 罗丹明配位型荧光探针结构:49 和 50 检测 Zn^{2+} , 51 和 52 检测 Pb^{2+} , 53~55 检测 Cr^{3+}

 Fig. 21 Coordination-based fluorescent probes:49,50 for Zn^{2+} , 51,52 for Pb^{2+} , 53~55 for Cr^{3+}

有机相中对 Pb^{2+} 有特异性响应,而在乙腈:水=3:7 的体系中则对 Hg^{2+} 有特异性响应。

3.6 检测 Cr^{3+}

Cr 元素是生命体内必不可少的元素之一,参与众多核酸、蛋白质、碳水化合物和脂肪的新陈代谢过程^[65]。然而过量的 Cr 元素则会导致各种各样的疾病^[66]。刘伟生报道了和探针 47 类似的三乙基四胺键连罗丹明的探针 53^[55],该探针可与 Cr^{3+} 形成 1:1 的配合物并诱导荧光增强。李富友等人报道了一个光学-电化学双信号检测的探针 54^[67],其设计思路与探针 39 相仿,同样可对 Cr^{3+} 表现出荧光增强型检测和电化学氧化峰的位移,并进行了初步的细胞成像研究。此外,李富友小组还将探针 54 的二茂铁替换为一个荧光能量给体萘酰亚胺,设计了能量转移比率型探针 55^[68], Cr^{3+} 的存在可诱导罗丹明开环并实现荧光能量转移,其细胞成像研究表明该探针可在细胞内实现对 Cr^{3+} 的比色成像观测。

3.7 检测 Pd

彭孝军等人将两个烯丙基引入到罗丹明酰肼中,合成了探针 56^[69]。利用 Pd 元素对烯键的强结合能力实现了对零价和二价 Pd 元素的荧光增强型检测。然而,该探针易受 Hg^{2+} 的干扰。之后该小组又报道了探针 57^[70],优化了选择性,可很好地对 Pd 元素进行检测,检测下限达到 $0.18 \mu\text{mol/L}$ 。

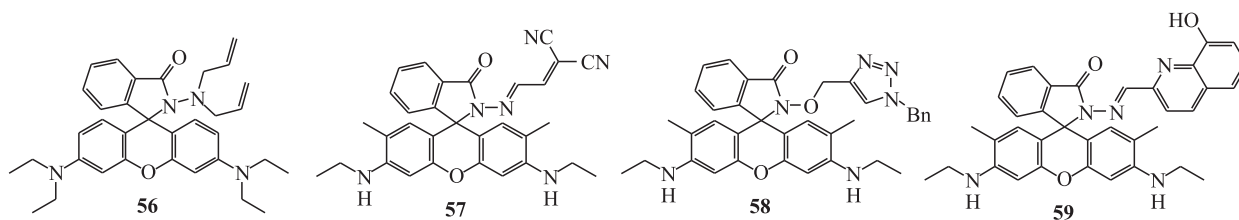

 图 22 罗丹明配位型荧光探针结构:56 和 57 检测 Pd,58 检测 Pt^{2+} , 59 检测 Yb^{3+}

 Fig. 22 Coordination-based fluorescent probes:56,57 for Pd,58 for Pt^{2+} , 59 for Yb^{3+}

3.8 检测 Pt^{2+}

Tae 小组报道了 1 个通过点击化学合成的罗丹明三唑化合物 58^[71],该探针在近水相中可对 Pt^{2+} 表现出比色响应和荧光增强型检测,表明三唑环结构有助于 Pt^{2+} 对探针的配位。

3.9 检测 Yb^{3+}

镧系元素可用于发射近红外光。段春迎等人报道了 1 个罗丹明-喹啉醛的席夫碱探针 59^[72], Yb^{3+} 的配位可诱导罗丹明染料开环,同时 Yb 配体发射出近红外光。

3.10 检测 pH 值

在不同的细胞生理活动如细胞的生长、附着、趋化以及内吞过程下,细胞和亚细胞器内的 pH 值也会

随之变化^[73-76]. 实时、准确地监测 pH 值有助于诊断各类疾病如神经变性疾病、囊肿性纤维化疾病、结肠癌和乳腺癌等^[77,78]. Dyer 等人首次报道合成了去除了螺环上的羰基的罗丹明衍生物 60^[79], 并进行了 pH 值的荧光检测. 韩守法等人报道了 1 个苯并二唑螺环的探针 61^[80], 并利用该探针进行了 pH 值的检测. 彭孝军小组报道了 1 个含有二乙二醇甲醚基团的罗丹明探针 62^[81], 该探针中的二乙二醇甲醚基团可定位于细胞内溶酶体细胞器, 细胞成像实验表明, 在溶酶体内 pH 4.0~pH 6.0 的环境下, 罗丹明螺环被 H⁺ 打开, 荧光得到增强. 本小组也报道了通过一步法合成罗丹明探针 63^[82], 探针分子中含有 1 个吗啉基团, 可定向监测细胞中的溶酶体的 pH 值. 此外该工作还通过溶酶体荧光成像证明了氯喹诱导的细胞凋亡过程. Kim 等人报道了 1 个二乙基三胺两端分别键连 1 个罗丹明 B 和荧光素的探针 64^[83], 该多色 pH 值探针可通过成像表现出细胞内不同 pH 值的区域. 彭孝军小组还报道了 1 个通过点击化学合成的 pH 值探针 65^[84], 该探针包含了罗丹明内酰胺螺环结构和 1 个荧光能量给体萘酰亚胺, 在中性及碱性环境下探针呈现出萘酰亚胺的绿色荧光, 酸性环境可促使罗丹明开环并发生荧光能量转移, 探针随之发射红色荧光, 该探针也被初步应用于生物成像研究, 结果令人满意.

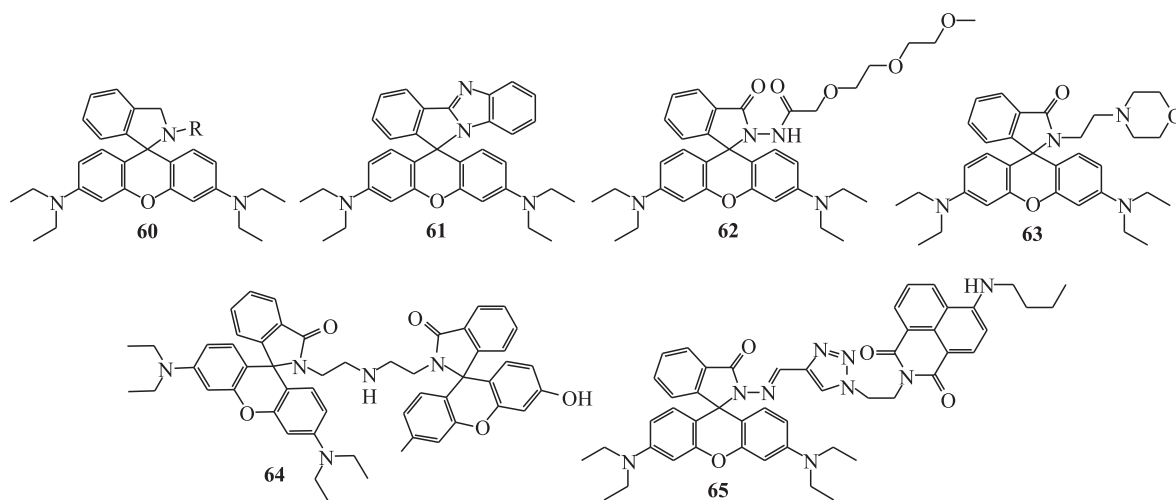


图 23 基于罗丹明的 pH 值荧光探针

Fig. 23 Rhodamine-based fluorescent probes for pH value

4 结论与展望

近十多年来, 荧光探针以及荧光成像技术均获得了极大的发展, 罗丹明染料的螺环开关导致荧光性能发生变化的特性, 提供了 1 个构建新型荧光探针的新平台. 本综述主要总结了反应型和配位型两类罗丹明螺环荧光探针用于检测多种分析对象的反应机理, 及相关探针在荧光生物成像方面的应用.

虽然已报道了大量基于罗丹明内酰胺螺环衍生物的新探针, 但如何基于该平台设计其他重金属离子如 Co²⁺、Ni²⁺、Cd²⁺、Mn²⁺ 等及大多数阴离子的荧光探针仍面临挑战. 此外, 用于检测一些易挥发气体、爆炸性气体以及新的生理相关的物质的荧光探针还有待开发. 将荧光探针和其他发光物质如有机染料、量子点、碳点、上转换材料等连接起来, 可望构建基于 FRET 的比率型荧光探针, 并为多功能化的检测体系的设计提供了平台. 随着化学和生物之间的学科交叉, 新型探针的发展、生物体适用性等也对探针领域提出了更高的要求, 如好的光稳定性、高荧光量子产率、较好的水溶性、较强的细胞穿透能力、低毒性以及能够避免生理基质的干扰等等.

[参考文献]

- [1] Cho D, Sessler J L. Modern reaction-based indicator systems[J]. Chemical Society Reviews, 2009, 38: 1 647-1 662.
- [2] Quang D T, Kim J S. Fluoro- and chromogenic chemodosimeters for heavy metal ion detection in solution and biospecimens[J]. Chemical Reviews, 2010, 110: 6 280-6 301.
- [3] Yang Y, Zhao Q, Feng W, et al. Luminescent chemodosimeters for bioimaging[J]. Chemical Reviews, 2013, 113: 192-270.

- [4] Chomchai S, Thawatchai T. Chromogenic anion sensors[J]. Chemical Society Reviews, 2003, 32: 192–202.
- [5] Kim H N, Guo Z, Zhu W, et al. Recent progress on polymer-based fluorescent and colorimetric chemosensors[J]. Chemical Society Reviews, 2011, 40: 79–93.
- [6] Chen X, Pradhan T, Wang F, et al. Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives[J]. Chemical Reviews, 2012, 112: 1 910–1 956.
- [7] Noeltling E, Dziewonsky K. Zur kenntniss der rhodamine[J]. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 1905, 38: 3 516–3 527.
- [8] Amat-Guerri F, Costela A, Figuera J M, et al. Laser action from rhodamine 6G-doped poly(2-hydroxyethyl methacrylate) matrices with different crosslinking degrees[J]. Chemical Physics Letters, 1993, 209: 352–356.
- [9] Multhaup G, Schlicksupp A, Hesse L, et al. The amyloid precursor protein of alzheimer's disease in the reduction of copper(II) to copper(I)[J]. Science, 1996, 271: 1 406–1 409.
- [10] 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: 7 386–7 387.
- [11] Xiang Y, Tong A. Ratiometric and selective fluorescent chemodosimeter for Cu(II) by Cu(II)-induced oxidation[J]. Luminescence, 2008, 23: 28–31.
- [12] Yu M, Shi M, Chen Z, et al. Highly sensitive and fast responsive fluorescence turn-on chemodosimeter for Cu²⁺ and its application in live cell imaging[J]. Chemistry-A European Journal, 2008, 14: 6 892–6 900.
- [13] Yuan L, Lin W, Chen B, et al. Development of FRET-based ratiometric fluorescent Cu²⁺ chemodosimeters and the applications for living cell imaging[J]. Organic Letters, 2012, 14: 432–435.
- [14] Fan J, Zhan P, Hu M, et al. A fluorescent ratiometric chemodosimeter for Cu²⁺ based on TBET and its application in living cells[J]. Organic Letters, 2013, 15: 492–495.
- [15] Office of Water, Environmental Protection Agency. Mercury Update: Impact on Fish Advisories; EPA Fact Sheet EPA-823-F-01-011[M]. Washington, DC: Environmental Protection Agency, 2001.
- [16] Kim K N, Choi M G, Noh J H, et al. Rhodamine B hydrazide revisited: chemodosimetric Hg²⁺-selective signaling behavior in aqueous environments[J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2008, 29: 571–574.
- [17] Yang Y, Yook K, Tae J. A rhodamine-based fluorescent and colorimetric chemodosimeter for the rapid detection of Hg²⁺ ions in aqueous media[J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127: 16 760–16 761.
- [18] Du J, Fan J, Peng X, et al. A new fluorescent chemodosimeter for Hg²⁺: selectivity, sensitivity, and resistance to Cys and GSH[J]. Organic Letters, 2010, 12: 476–479.
- [19] Gong Y, Zhang X, Chen Z, et al. An efficient rhodamine thiospirolactam-based fluorescent probe for detection of Hg²⁺ in aqueous samples[J]. Analyst, 2012, 137: 932–938.
- [20] Liu W, Xu L, Zhang H, et al. Dithiolane linked thiorhodamine dimer for Hg²⁺ recognition in living cells[J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2009, 7: 660–664.
- [21] Zhang X, Xiao Y, Qian X. A ratiometric fluorescent probe based on FRET for imaging Hg²⁺ ions in living cells[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2008, 47: 8 025–8 029.
- [22] Shang G, Gao X, Chen M, et al. A novel Hg²⁺ selective ratiometric fluorescent chemodosimeter based on an intramolecular FRET mechanism[J]. Journal of Fluorescence, 2008, 18: 1 187–1 192.
- [23] Yu H, Xiao Y, Guo H, et al. Convenient and efficient FRET platform featuring a rigid biphenyl spacer between rhodamine and BODIPY: transformation of 'turn-on' sensors into ratiometric ones with dual emission[J]. Chemistry-A European Journal, 2011, 17: 3 179–3 191.
- [24] Gong Y, Zhang X, Zhang C, et al. Through bond energy transfer: a convenient and universal strategy toward efficient ratiometric fluorescent probe for bioimaging applications[J]. Analytical Chemistry, 2012, 84: 10 777–10 784.
- [25] Lee M H, Giap T V, Kim S H, et al. A novel strategy to selectively detect Fe(III) in aqueous media driven by hydrolysis of a rhodamine 6G Schiff base[J]. Chemical Communications, 2010, 46: 1 407–1 409.
- [26] 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: 2 040–2 041.
- [27] Shi W, Sun S, Li X, et al. Imaging different interactions of mercury and silver with live cells by a designed fluorescence probe rhodamine B selenolactone[J]. Inorganic Chemistry, 2010, 49: 1 206–1 210.
- [28] Jou M J, Chen X Q, Swamy K M K, et al. Highly selective fluorescent probe for Au³⁺ based on cyclization of propargylamide[J].

- Chemical Communications, 2009, 45: 7 218–7 220.
- [29] Egorova O A, Seo H, Chatterjee A, et al. Reaction-based fluorescent sensing of Au(I)/Au(III) species; mechanistic implications on vinylgold intermediates[J]. Organic Letters, 2010, 12: 401–403.
- [30] Yang Y, Lee S, Tae J, et al. A gold(III) ion-selective fluorescent probe and its application to bioimaging[J]. Organic Letters, 2009, 11: 5 610–5 613.
- [31] Liu T Z, Lee S D, Bhatnagar R S. Toxicity of palladium[J]. Toxicology Letters, 1979, 4: 469–473.
- [32] Jun M E, Ahn K H. Fluorogenic and chromogenic detection of palladium species through a catalytic conversion of a rhodamine B derivative[J]. Organic Letters, 2010, 12: 2 790–2 793.
- [33] Kenmoku S, Urano Y, Kojima H, et al. Development of a highly specific rhodamine-based fluorescence probe for hypochlorous acid and its application to real-time imaging of phagocytosis[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129: 7 313–7 318.
- [34] Chen X Q, Lee K, Ha E, et al. A specific and sensitive method for detection of hypochlorous acid for the imaging of microbe-induced HOCl production[J]. Chemical Communications, 2011, 47: 4 373–4 375.
- [35] Yang Y, Cho H J, Lee J, et al. A rhodamine-hydroxamic acid-based fluorescent probe for hypochlorous acid and its applications to biological imaging[J]. Organic Letters, 2009, 11: 859–861.
- [36] Chen X, Wang X, Wang S, et al. A highly selective and sensitive fluorescence probe for the hypochlorite anion[J]. Chemistry-A European Journal, 2008, 14: 4 719–4 724.
- [37] Zheng H, Shang G, Yang S, et al. Fluorogenic and chromogenic rhodamine spirolactam based probe for nitric oxide by spiro ring opening reaction[J]. Organic Letters, 2008, 10: 2 357–2 360.
- [38] 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: 11 507–11 509.
- [39] Li H, Fan J, Wang J, et al. A fluorescent chemodosimeter specific for cysteine; effective discrimination of cysteine from homocysteine[J]. Chemical Communications, 2009, 45: 5 904–5 906.
- [40] Sidell F R, Borak J. Chemical warfare agents; II. Nerve agents[J]. Annals of Emergency Medicine, 1992, 21: 865–871.
- [41] Han S, Xue Z, Wang Z, et al. Visual and fluorogenic detection of a nerve agent simulant via a Lossen rearrangement of rhodamine-hydroxamate[J]. Chemical Communications, 2010, 46: 8 413–8 415.
- [42] Wu X, Wu Z, Yang Y, et al. A highly sensitive fluorogenic chemodosimeter for rapid visual detection of phosgene[J]. Chemical Communications, 2012, 48: 1 895–1 897.
- [43] Kim H N, Nam S, Swamy K M K, et al. Rhodamine hydrazone derivatives as Hg^{2+} selective fluorescent and colorimetric chemosensors and their applications to bioimaging and microfluidic system[J]. Analyst, 2011, 136: 1 339–1 343.
- [44] Wu D, Huang W, Duan C, et al. Highly sensitive fluorescent probe for selective detection of Hg^{2+} in DMF aqueous media[J]. Inorganic Chemistry, 2007, 46: 1 538–1 540.
- [45] Shiraishi Y, Sumiya S, Kohno Y, et al. A rhodamine-cyclen conjugate as a highly sensitive and selective fluorescent chemosensor for $\text{Hg}(\text{II})$ [J]. The Journal of Organic Chemistry, 2008, 73: 8 571–8 574.
- [46] Huang J, Xu Y, Qian X. A rhodamine-based Hg^{2+} sensor with high selectivity and sensitivity in aqueous solution: A NS_2 -containing receptor[J]. The Journal of Organic Chemistry, 2009, 74: 2 167–2 170.
- [47] Yang H, Zhou Z, Huang K, et al. Multisignaling optical-electrochemical sensor for Hg^{2+} based on a rhodamine derivative with a ferrocene unit[J]. Organic Letters, 2007, 9: 4 729–4 732.
- [48] Suresh M, Mishra S, Mishra S K, et al. Resonance energy transfer approach and a new ratiometric probe for Hg^{2+} in aqueous media and living organism[J]. Organic Letters, 2009, 11: 2 740–2 743.
- [49] Xiang Y, Tong A, Jin P, et al. New fluorescent rhodamine hydrazone chemosensor for $\text{Cu}(\text{II})$ with high selectivity and sensitivity[J]. Organic Letters, 2006, 8: 2 863–2 866.
- [50] Zhao Y, Zhang X, Han Z, et al. Highly sensitive and selective colorimetric and off-on fluorescent chemosensor for Cu^{2+} in aqueous solution and living cells[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81: 7 022–7 030.
- [51] Swamy K M K, Ko S, Kwon S K, et al. Boronic acid-linked fluorescent and colorimetric probes for copper ions[J]. Chemical Communications, 2008, 45: 5 915–5 917.
- [52] Zhang J F, Zhou Y, Yoon J, et al. Naphthalimide modified rhodamine derivative; ratiometric and selective fluorescent sensor for Cu^{2+} based on two different approaches[J]. Organic Letters, 2010, 12: 3 852–3 855.
- [53] Lee M H, Kim H J, Yoon S, et al. Metal ion induced FRET OFF-ON in tren/dansyl-appended rhodamine[J]. Organic Letters,

- 2008,10:213–216.
- [54] Xiang Y, Tong A. A new rhodamine-based chemosensor exhibiting selective Fe^{III}-amplified fluorescence[J]. Organic Letters, 2006,8:1 549–1 552.
- [55] Mao J, Wang L, Dou W, et al. Tuning the selectivity of two chemosensors to Fe(III) and Cr(III) [J]. Organic Letters, 2007, 9:4 567–4 570.
- [56] Zhang L, Fan J, Peng X. X-ray crystallographic and photophysical properties of rhodamine-based chemosensor for Fe³⁺ [J]. Spectrochimica Acta Part A, 2009,73:398–402.
- [57] Cuajungco M P, Lees G J. Zinc metabolism in the brain; relevance to human neurodegenerative disorders[J]. Neurobiology of Disease, 1997,4:137–169.
- [58] Choi D W, Koh J Y. Zinc and brain injury[J]. Annual Review of Neuroscience, 1998,21:347–375.
- [59] Suh S W, Jensen K B, Jensen M S. Histochemically-reactive zinc in amyloid plaques, angiopathy, and degenerating neurons of Alzheimer's diseased brains[J]. Brain Research, 2000,852:274–278.
- [60] Mashraqui S H, Khan T, Sundaram S, et al. Rhodamine-pyridyl probe; a selective optical reporter for biologically important Zn²⁺ [J]. Chemistry Letters, 2009,38:730–731.
- [61] Han Z, Zhang X, Li Z, et al. Efficient fluorescence resonance energy transfer-based ratiometric fluorescent cellular imaging probe for Zn²⁺ using a rhodamine spirolactam as a trigger[J]. Analytical Chemistry, 2010,82:3 108–3 113.
- [62] Needleman H L. Human Lead Exposure[M]. Boca Raton: CRC Press, 1992.
- [63] Kwon J Y, Jang Y J, Lee Y J, et al. A highly selective fluorescent chemosensor for Pb²⁺ [J]. Journal of the American Chemical Society, 2005,127:10 107–10 111.
- [64] Hu Z, Lin C, Wang X, et al. Highly sensitive and selective turn-on fluorescent chemosensor for Pb²⁺ and Hg²⁺ based on a rhodamine-phenylurea conjugate[J]. Chemical Communications, 2010,46:3 765–3 767.
- [65] Arakawa H, Ahmad R, Naoui M, et al. A comparative study of calf thymus DNA binding to Cr(III) and Cr(VI) ions. Evidence for the guanine N-7-chromium-phosphate chelate formation [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275: 10 150–10 153.
- [66] Vincent J B. Quest for the molecular mechanism of chromium action and its relationship to diabetes[J]. Nutrition Reviews, 2000,58:67–72.
- [67] Huang K, Yang H, Zhou Z, et al. Multisignal chemosensor for Cr³⁺ and its application in bioimaging[J]. Organic Letters, 2008,10:2 557–2 560.
- [68] Zhou Z, Yu M, Yang H, et al. FRET-based sensor for imaging chromium(III) in living cells[J]. Chemical Communications, 2008,29:3 387–3 389.
- [69] Li H, Fan J, Du J, et al. A fluorescent and colorimetric probe specific for palladium detection[J]. Chemical Communications, 2010,46:1 079–1 081.
- [70] Li H, Fan J, Song F, et al. Fluorescent probes for Pd²⁺ detection by allylidene-hydrazone ligands with excellent selectivity and large fluorescence enhancement[J]. Chemistry-A European Journal, 2010,16:12 349–12 356.
- [71] Kim H, Lee S, Lee J, et al. Rhodamine triazole-based fluorescent probe for the detection of Pt²⁺ [J]. Organic Letters, 2010, 12:5 342–5 345.
- [72] Huang W, Wu D, Guo D, et al. Efficient near-infrared emission of a Ytterbium(III) compound with a green light rhodamine donor[J]. Dalton Transactions, 2009,12:2 081–2 084.
- [73] Martinez-Zaguilln R, Chinnock B F, Wald-Hopkins S, et al. [Ca²⁺]_i and pH_{in} homeostasis in Kaposi Sarcoma cells[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 1996,6:169–184.
- [74] Shimizu Y, Hunt S W. Regulating integrin-mediated adhesion; one more function for PI 3-kinase? [J]. Immunology Today, 1996,17:565–573.
- [75] Falke J J, Bass R B, Butler S L, et al. The two-component signaling pathway of bacterial chemotaxis; a molecular view of signal transduction by receptors, kinases, and adaptation enzymes[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 1997,13: 457–512.
- [76] Satoh H, Hayashi H, Katoh H, et al. Na⁺/H⁺ and Na⁺/Ca²⁺ exchange in regulation of [Na⁺]_i and [Ca²⁺]_i during metabolic inhibition[J]. American Journal of Physiology, 1995,268:H1 239–1 248.
- [77] Kogot-Levin A, Zeigler M, Ornoy A, et al. Mucopolidosis type IV; the effect of increased lysosomal pH on the abnormal lysosomal storage[J]. Pediatric Research, 2009,65:686–690.

- [78] Poschet J, Perkett E, Deretic V. Hyperacidification in cystic fibrosis: links with lung disease and new prospects for treatment[J]. Trends in Molecular Medicine, 2002, 8: 512–519.
- [79] Best Q A, Xu R, McCaroll M E, et al. Design and investigation of a series of rhodamine-based fluorescent probes for optical measurements of pH[J]. Organic Letters, 2010, 12: 3 219–3 221.
- [80] Xue Z, Chen M, Chen J, et al. A rhodamine-benzimidazole based sensor for selective imaging of acidic pH[J]. RSC Advances, 2014, 4: 374–378.
- [81] Zhu H, Fan J, Xu Q, et al. Imaging of lysosomal pH changes with a fluorescent sensor containing a novel lysosome-locating group[J]. Chemical Communications, 2012, 48: 11 766–11 768.
- [82] Shi X, Mao G, Zhang X, et al. Rhodamine-based fluorescent probe for direct bio-imaging of lysosomal pH changes[J]. Talanta, 2014, 130: 356–362.
- [83] Lee M H, Han J H, Lee J H, et al. Two-color probe to monitor a wide range of pH values in cells[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2013, 52: 6 206–6 209.
- [84] Fan J, Li C, Li H, et al. A ratiometric lysosomal pH chemosensor based on fluorescence resonance energy transfer[J]. Dyes and Pigments, 2013, 99: 620–626.

[责任编辑: 陆炳新]