

# 具有双识别位点的 ONOO<sup>-</sup> 荧光探针的合成及性质研究

李富卓, 来素涵, 田勇琪, 曾 竟\*

(新疆师范大学化学化工学院, 新疆 乌鲁木齐 830054)

**摘要:**充分利用四苯基乙烯化合物 2-羟基-5-(1,2,2-三苯基乙烯基)苯甲醛(OHC-TPE-OH)中的活泼羟基和醛基,通过缩合和亲核取代反应设计合成了基于碳氮双键和苯硼酸酯基为 ONOO<sup>-</sup> 识别位点的荧光探针 NC-TPE-BOH,并利用光谱法研究探针 NC-TPE-BOH 的光学性能。结果表明,探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O(25 μmol/L, 体积比 1/4, PBS, pH=7.4) 测试体系中,当 ONOO<sup>-</sup> 存在时,在 530 nm 处引起了“turn-off”荧光效应,荧光猝灭比为 98.1%,实现了对 ONOO<sup>-</sup> 的特异选择性识别,检出限为 4.34×10<sup>-7</sup> mol/L,并且 Stokes 位移高达 195 nm。通过 <sup>1</sup>H-NMR、ESI-MS 探究了探针 NC-TPE-BOH 对 ONOO<sup>-</sup> 的识别原理,探针在 ONOO<sup>-</sup> 存在下,在引起 C=N 键的氧化水解生成羧酸时苯硼酸基也发生了氧化水解,并通过电子转移失去醌酮得氧负离子。

**关键词:**四苯乙烯;聚集诱导发光;过氧化亚硝酸负离子;荧光探针

**中图分类号:**TH3

**文献标志码:**A

**文章编号:**0253-4320(2023)04-0231-06

**DOI:**10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2023.04.044

## Synthesis and properties of ONOO<sup>-</sup> fluorescent probes with dual recognition sites

LI Fu-zhuo, LAI Su-han, TIAN Yong-qi, ZENG Jing\*

(School of Chemistry & Chemical Engineering, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China)

**Abstract:**NC-TPE-BOH fluorescence probe with C=N bond and phenylboronic ester group as ONOO<sup>-</sup> recognition sites is designed and synthesized through condensation and nucleophilic substitution reactions by taking full advantage of the active hydroxyl and aldehyde groups in tetraphenylethylene fluorescent parent 2-hydroxy-5-(1,2,2-triphenylethenyl) benzaldehyde (OHC-TPE-OH). Results show that NC-TPE-BOH probe induces a “turn-off” fluorescence effect at 530 nm in the presence of ONOO<sup>-</sup> in DMSO/H<sub>2</sub>O (25 μmol·L<sup>-1</sup>, v/v = 1/4, PBS, pH = 7.4) test system, showing a fluorescence quenching ratio of 98.1%. The probe realizes the specific and selective recognition to ONOO<sup>-</sup>, with a detection limit of 4.34×10<sup>-7</sup> mol·L<sup>-1</sup>, and Stokes shift is as high as 195 nm. The recognition principle of NC-TPE-BOH probe to ONOO<sup>-</sup> is investigated by means of <sup>1</sup>H-NMR and ESI-MS. It is verified that phenylboronic ester group also experiences oxidative hydrolysis while NC-TPE-BOH probe induces oxidative hydrolysis of —C=N to form —COOH in the presence of ONOO<sup>-</sup>. Phenylboronic acid group loses quinone to generate oxygen negative ions through electron rearrangement.

**Key words:** tetraphenylethylene; aggregation induced luminescence; peroxy nitrite anion; fluorescence probe

在正常的生理状况下,活性氧(ROS)/活性氮(RNS)在细胞内的产生和消耗处于一个动态平衡的状态<sup>[1-3]</sup>,但在一些外源性或者内源性刺激下动态平衡被打破,引起 ROS/RNS 的快速增加,从而导致一系列疾病<sup>[4-5]</sup>,如心脏疾病、血管疾病、局部炎症、癌症、中风和神经退行性疾病<sup>[6]</sup>,因此检测活性氧(ROS)/活性氮(RNS)的水平对疾病诊断和预防等具有重要意义。在过去的几年里,各种技术被应用于检测 ONOO<sup>-</sup>,包括电子自旋共振<sup>[7]</sup>、电化学分析<sup>[8]</sup>、UV/Vis 光谱<sup>[9]</sup>和光声纳米探针<sup>[10]</sup>,但过氧亚硝酸负离子(ONOO<sup>-</sup>)具有稳定性弱、含量低和寿命短的特点,上述检测方法存在很大的局限,因此继续

开发具有选择性好、灵敏度高的 ONOO<sup>-</sup> 检测方法至关重要。

而荧光探针法具有实时、高灵敏度和无损检测等优势,到目前为止,基于不同 ONOO<sup>-</sup> 识别位点,人们设计合成了大量的 ONOO<sup>-</sup> 荧光探针<sup>[11-12]</sup>,对 ONOO<sup>-</sup> 的识别均表现出良好的灵敏度和选择性。这些荧光探针的识别原理主要包括:①硼酸酯基氧化水解<sup>[13]</sup>;②酰肼/酰胺/酯的氧化水解<sup>[14-15]</sup>;③磷酸基氧化<sup>[16]</sup>;④甲基(4-羟基苯基)氨基氧化<sup>[17]</sup>;⑤双键(C=C、C=N)氧化<sup>[18]</sup>;⑥醚键氧化水解<sup>[19]</sup>等作用机制。其中 C=N 双键是目前比较常用的荧光调控机理之一,具有合成方便、灵敏度高、专一性

收稿日期:2022-11-03;修回日期:2023-02-16

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2022D01A95)

作者简介:李富卓(1998-),男,硕士生;曾竟(1981-),女,博士,教授,主要从事有机合成研究,通讯联系人,zengjing800111@163.com。

好等优点。例如 Wang 等<sup>[20]</sup>设计了以香豆素为母体、C=N 双键为识别位点的荧光探针,该探针具有高选择性并用于细胞成像,检出限低至 0.135  $\mu\text{mol/L}$ 。此外苯硼酸酯基对 ONOO<sup>-</sup>也具有选择性好、合成方便等优点,Wu 等<sup>[21]</sup>设计的以苯硼酸酯为识别位点的近红外荧光探针 DCM-Bpin 具有良好的生物相容性和选择性,已用于外源性 ONOO<sup>-</sup>在 HeLa 细胞的荧光成像。Xia 等<sup>[22]</sup>合成了一种独特的荧光开启探针 KC-ONOO,该探针具有较好的选择性和灵敏度,检测限为  $1.5 \times 10^{-8}$  mol/L,此外,KC-ONOO 探针被成功应用于活细胞和药物损伤的肝组织中 ONOO<sup>-</sup>的示踪,细胞毒性较低。

但上述探针更多以传统荧光染料为荧光母体,易发生聚集诱导荧光猝灭(ACQ)导致假阴性等问题,同时存在 Stokes 位移小(20~70 nm)、易致自猝灭、背景激发光引起测量误差和检测的可信度低等问题。鉴于此,构建具有聚集诱导发光(AIE)的大 Stokes 位移、高灵敏的 ONOO<sup>-</sup>荧光探针具有重要意义。本文中以典型聚集诱导发光(AIE)染料四苯乙烯为荧光母体,通过结构上的醛基和羟基进行修饰,合成得到以碳氮双键和硼酸酯为识别位点的 ONOO<sup>-</sup>荧光探针 NC-TPE-BOH,以期提高探针的灵敏度,克服假阴性和 Stokes 位移小等问题。研究表明,探针 NC-TPE-BOH 实现了对 ONOO<sup>-</sup>的专一性识别,当 ONOO<sup>-</sup>存在时,在 530 nm 处引起了“turn-off”荧光效应,荧光猝灭比为 98.1%,检测限低至  $4.34 \times 10^{-7}$  mol/L,并且探针 NC-TPE-BOH 的 Stokes 位移高达 195 nm。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

乙醇、二甲基亚砜(DMSO)、二氨基马来腈、2-(4-(溴甲基)苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼烷,所用试剂均为分析纯。

Cary Eclipse 型荧光分光光度计、Varian 400-MR 型核磁共振波谱仪、U-3310 型紫外-可见分光光度计、TENSOR27 型红外光谱仪、TRACE MS 型质谱仪。

### 1.2 探针 NC-TPE-BOH 的合成与表征

探针 NC-TPE-BOH 的合成方法<sup>[23-24]</sup>见图 1。首先称取 1.00 g (2.65 mmol) 化合物 OHC-TPE-OH, 1.57 g (5.3 mmol) 化合物 1 和 0.73 g (5.3 mmol)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  加入 50 mL 瓶中,并用 20 mL

DMF 溶解后加热至 80℃,反应结束冷却到室温,并用乙酸乙酯萃取,干燥后旋转蒸发去除溶剂,混合物重结晶得到白色固体化合物 2 (1.23 g, 75%)。然后称取 1.00 g (1.68 mmol) 化合物 2 和 2.18 g (20.16 mmol) 化合物 3 于 50 mL 瓶中,并用 30 mL 乙醇溶剂溶解后加热至回流。待反应结束后冷却析出固体,抽滤,所得固体多次用冷乙醇洗涤,最终得到黄色固体 NC-TPE-BOH (0.90 g, 77%)。表征图谱结果如下,<sup>1</sup>HNMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz),  $\delta$ : 1.34 (s, 12H), 4.85 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 6.69 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.97~7.12 (m, 16H), 7.36 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.59 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 7.80 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.76 (s, 1H); <sup>13</sup>CNMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz),  $\delta$ : 24.9, 70.4, 83.9, 109.0, 112.25, 112.33, 113.6, 123.0, 123.9, 126.2, 126.5, 126.6, 127.6, 127.8, 127.8, 131.2, 131.2, 131.3, 131.3, 135.1, 136.2, 136.7, 139.2, 139.4, 140.9, 143.2, 143.5, 143.8, 155.0, 157.4; MS ( $m/z$ ): 683.3 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ )。

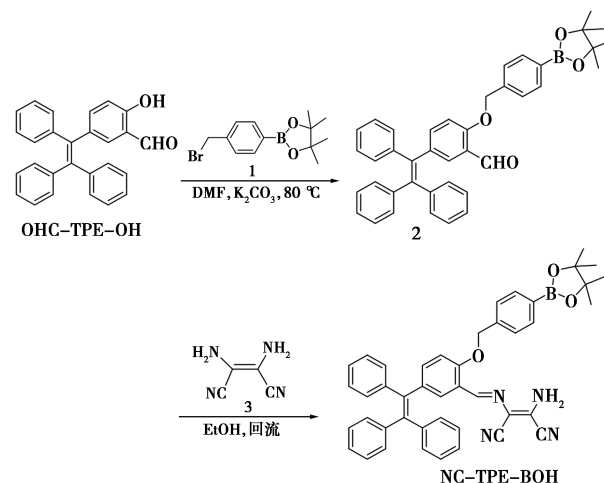


图 1 探针 NC-TPE-BOH 的合成方法

### 1.3 溶液配制和测试方法

聚集诱导荧光溶液配制和性能测试方法:首先分别移取 0.25 mL 探针储备液 ( $C_0 = 5 \times 10^{-4}$  mol/L)、4.75 mL DMSO 和 0 mL 不良溶剂-水到 5.00 mL 的小瓶中,获得水体积分数为 0% 待测液,按照此法,分别配制水体积分数 10%~90% 的待测液,并测定聚集诱导发光性质 ( $E_x = 335$  nm,  $E_m = 530$  nm)。

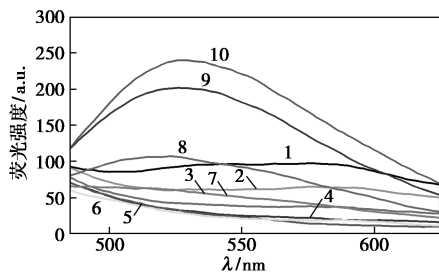
探针 NC-TPE-BOH (DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$ , 体积比 1:4, PBS, pH = 7.4) 测试溶液配制和荧光性能测试方法:首先移取 0.25 mL 探针 NC-TPE-BOH 储备液 ( $C_0 = 5 \times 10^{-4}$  mol/L), 0.75 mL 二甲基亚砜 (DMSO) 和 3.95 mL 的不良溶剂-水到 5.00 mL 的小瓶中,再用

0.05 mL PBS (pH = 6.1) 缓冲溶液调节 pH 获得 25  $\mu\text{mol/L}$  的探针 NC-TPE-BOH (DMSO/H<sub>2</sub>O, 体积比 1:4, PBS, pH = 7.4) 测试溶液。依照此法,在上述探针溶液中分别加入 5 equiv 相应体积的不同 ROS/RNS 及金属离子,测定荧光性能,探究不同离子对探针反应活性的影响 ( $E_x = 335 \text{ nm}$ ,  $E_m = 530 \text{ nm}$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 探针 NC-TPE-BOH 聚集诱导荧光性质研究

以二甲基亚砜为良溶剂,水为不良溶剂,研究了 NC-TPE-BOH 的聚集诱导发光性能。结果如图 2 所示。探针 NC-TPE-BOH (25  $\mu\text{mol/L}$ ) 的二甲基亚砜溶液在 580 nm 处的荧光强度为 96,当水体积分数为 70%时,荧光增强至 107,并蓝移至 530 nm。当水体积分数达到 90%时,在 530 nm 处荧光强度增强到 240,与纯溶液相比增强了 2.5 倍,表明探针 NC-TPE-BOH 体现了良好的聚集诱导发光性能。产生原因可能是在不良溶剂中,探针 NC-TPE-BOH 自旋受阻,诱使激发态能量发生跃迁产生了明显的荧光信号。



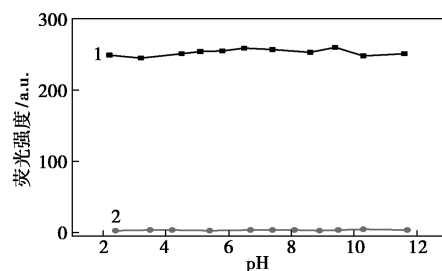
1—0%; 2—10%; 3—20%; 4—30%; 5—40%; 6—50%; 7—60%;  
8—70%; 9—80%; 10—90%  
25  $\mu\text{mol/L}$ ,  $\lambda_{Ex} = 335 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{Em} = 530 \text{ nm}$

图 2 探针 NC-TPE-BOH 在不同含水量的 DMSO/H<sub>2</sub>O 混合溶液体系中聚集诱导的荧光光谱

### 2.2 探针 NC-TPE-BOH 的 pH 荧光响应性研究

为探究探针 NC-TPE-BOH 最佳选择性能的实验条件,在探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25  $\mu\text{mol/L}$ , 体积比 1:4) 溶液中分别加入不同体积的 0.1 mol/L 盐酸和 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH,考察了不同 pH 对探针 NC-TPE-BOH 溶液荧光性能的影响,结果如图 3 所示,无 ONOO<sup>-</sup> 时,探针溶液在 pH 2.2~11.6 范围下,荧光强度趋于稳定,荧光强度介于 245~260。而探针 NC-TPE-BOH 与 ONOO<sup>-</sup> 作用后,在 pH 2.2~11.6 范围下 530 nm 处

均实现了荧光猝灭。由于生命体系 pH 接近中性,因此后续实验选择 pH = 7.4。

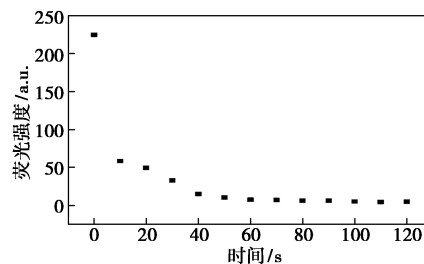


1—空白; 2—加 ONOO<sup>-</sup>  
DMSO/H<sub>2</sub>O, 体积比 1:4, 25  $\mu\text{mol/L}$

图 3 pH 对探针 NC-TPE-BOH 反应体系的荧光强度的影响

### 2.3 探针 NC-TPE-BOH 对 ONOO<sup>-</sup> 的时间响应研究

为了研究探针 NC-TPE-BOH 对 ONOO<sup>-</sup> 识别的灵敏度,探究了探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (体积比 1:4, PBS, pH = 7.4) 测试溶液对 ONOO<sup>-</sup> 的时间响应性能,如图 4 所示,向探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25  $\mu\text{mol/L}$ , 体积比 1:4, PBS, pH = 7.4) 的溶液中加入 ONOO<sup>-</sup> (5 equiv) 1 min 后探针溶液荧光强度趋于稳定,表现出对 ONOO<sup>-</sup> 高灵敏度,因此后期荧光测试选择 1 min 后进行测试。



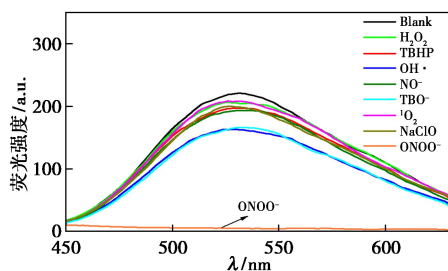
25  $\mu\text{mol/L}$ , 体积比 1:4, PBS, pH = 7.4

图 4 向探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O 中加入 ONOO<sup>-</sup> 后的时间响应光谱图

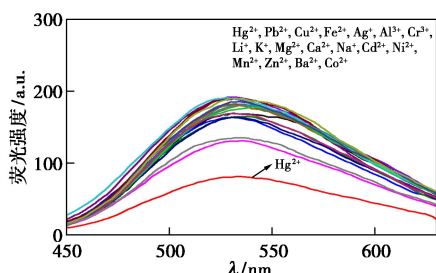
### 2.4 探针 NC-TPE-BOH 对活性氧和金属离子的选择性研究

在最佳测试条件下,通过荧光光谱法,探究了探针 NC-TPE-BOH 对活性氧/氮和金属离子选择性能,结果如图 5 所示。探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25  $\mu\text{mol/L}$ , 体积比 1:4, PBS, pH = 7.4) 溶液与 ONOO<sup>-</sup> 作用时,在 530 nm 处荧光强度由 220 降为 4,猝灭比 98.1%,而在其他活性氧和金属离子存在下 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TBHP, OH<sup>·</sup>, NO<sup>-</sup>, TBO<sup>-</sup>, NaClO, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, Hg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Li<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>,

Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>), 除 Hg<sup>2+</sup> 对探针 NC-TPE-BOH (25 μmol/L) 有荧光影响外, 荧光强度降至 163, 其他物种均未发生荧光猝灭现象。结果表明, 探针 NC-TPE-BOH 对 ONOO<sup>-</sup> 表现出特异的选择性和专一性。此外, 探针 NC-TPE-BOH 与 ONOO<sup>-</sup> 反应后, 探针 NC-TPE-BOH 溶液的 Stokes 位移高达 195 nm, 在荧光测试和实际应用中可以有效避免自身荧光吸收和内滤效应。



(a) 探针 NC-TPE-BOH 与等量的 ROS/RNS 荧光光谱



(b) 探针 NC-TPE-BOH 与等量的金属阳离子 (5 equiv) 的荧光光谱

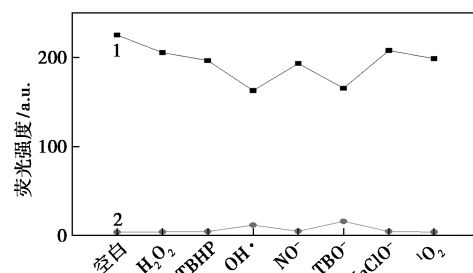
$\lambda_{E_x} = 335 \text{ nm}, \lambda_{E_m} = 530 \text{ nm}$

图 5 探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25 μmol/L, 体积比 1:4, PBS, pH=7.4) 的荧光光谱

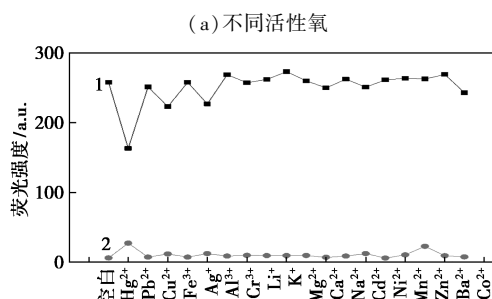
### 2.5 探针 NC-TPE-BOH 对 ONOO<sup>-</sup> 和金属离子的抗干扰性质研究

为了研究探针 NC-TPE-BOH 的抗干扰能力, 首先在探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25 μmol/L, 体积比 1:4, PBS, pH=7.4) 体系中分别加入 5 equiv 的 ROS/RNS 或金属离子, 然后再分别加入 5 equiv ONOO<sup>-</sup>, 通过荧光光谱法研究探针 NC-TPE-BOH 的抗干扰能力。结果如图 6 所示, 当加入 ROS/RNS 或金属离子时, 与空白相比, 这些物种均没有引起探针溶液明显的荧光猝灭, 荧光强度在 165~273, 但当其他 ROS/RNS 或金属离子与 ONOO<sup>-</sup> 共存时, 探针 NC-TPE-BOH 溶液在 530 nm 处引起荧光猝灭, 这表明探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25 μmol/L, 体积比 1:4, PBS, pH=7.4)

体系具有良好的抗干扰性。



1—未加 ONOO<sup>-</sup> 的活性氧; 2—加入 ONOO<sup>-</sup> 的活性氧

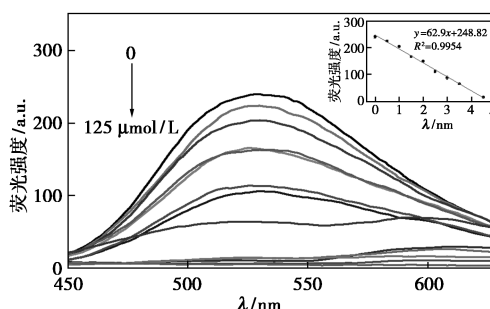


1—未加 ONOO<sup>-</sup> 的各种离子; 2—加入 ONOO<sup>-</sup> 的离子

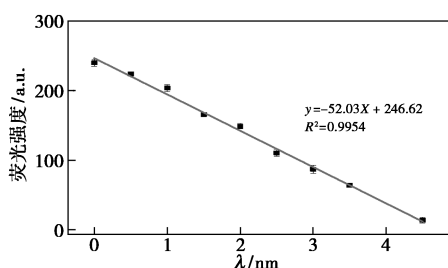
(b) 不同金属离子  
图 6 不同情况下探针 NC-TPE-BOH 的荧光强度对比

### 2.6 探针 NC-TPE-BOH 与不同浓度 ONOO<sup>-</sup> 的相互作用荧光响应性能研究

为了进一步探究探针 NC-TPE-BOH 与 ONOO<sup>-</sup> 作用情况, 以探针 NC-TPE-BOH 的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25 μmol/L, 体积比 1:4, PBS, pH=7.4) 作为测试体系, 研究探针 NC-TPE-BOH 对不同浓度 ONOO<sup>-</sup> 的荧光响应性能, 如图 7(a) 所示, 发现随着 ONOO<sup>-</sup> 浓度增加, 在 530 nm 处荧光强度随着 ONOO<sup>-</sup> 浓度增大而逐渐降低, 且 ONOO<sup>-</sup> 浓度在 0~67.5 μmol/L 时, 探针荧光强度与 ONOO<sup>-</sup> 浓度有较好的线性关系, 经过拟合得线性回归方程  $y = -52.03x + 246.62$ ,  $R^2 = 0.9954$ , 并通过检测限公式  $D = 3S_d/\rho$  ( $\rho$  是荧光强度与 ONOO<sup>-</sup> 的斜率,  $S_d$  是空白标准偏差) 得出检出限  $4.34 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ , 表明探针具有很高的灵敏度。



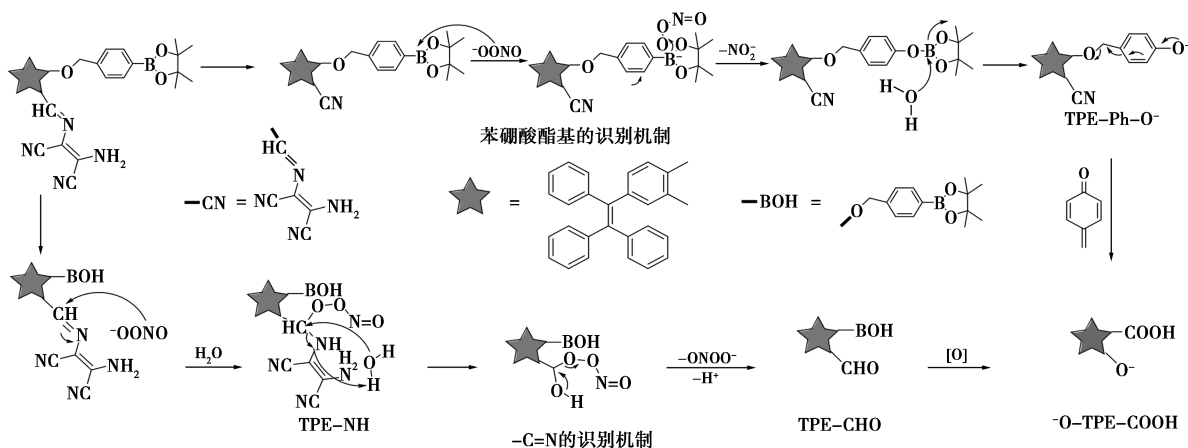
(a) 荧光光谱图 (内图为荧光强度与 ONOO<sup>-</sup> 浓度的线性关系,  $R^2 = 0.9954$ )

(b) 线性关系曲线图 ( $E_x = 335 \text{ nm}$ ,  $E_m = 530 \text{ nm}$ )图7 NC-TPE-BOH 的二甲基亚砜/水溶液中逐渐加入不同浓度的 ONOO<sup>-</sup> 后的结果

## 2.7 探针 NC-TPE-BOH 识别 ONOO<sup>-</sup> 的机理探究

为探究 NC-TPE-BOH 与 ONOO<sup>-</sup> 之间的识别机理,对探针 NC-TPE-BOH-ONOO<sup>-</sup> 混合物进行了 <sup>1</sup>HNMR、ESI-MS 分析,结果表明,与 CN-TPE-BOH 的 <sup>1</sup>HNMR 图相比较,探针 NC-TPE-BOH-ONOO<sup>-</sup> 混合物的 <sup>1</sup>HNMR 图中  $\delta = 5.12 \times 10^{-6}$  (—CH<sub>2</sub>) 和  $\delta =$

$8.76 \times 10^{-6}$  (—CH=N) 处峰消失,说明探针 NC-TPE-BOH 在 ONOO<sup>-</sup> 作用下可能发生了—C=N 键的氧化水解以及苯硼酸酯基的氧化分解。同时对探针 NC-TPE-BOH-ONOO<sup>-</sup> 混合物的 ESI-MS 分析也得到相同结论,其中  $m/z = 391.1$  处的峰可归因于探针 NC-TPE-BOH 的氧化水解—C=N 双键和苯硼酸酯基的氧化分解产物<sup>-</sup>O-TPE-COOH 的分子离子峰。根据上述结果,提出了如图 8 中描述的识别机制:一是 ONOO<sup>-</sup> 作为亲核试剂与 C=N 键发生亲核加成水解反应为胺和醛类化合物而醛类化合物在过氧化亚硝酸盐作用下继续被氧化成羧酸。同时具有亲核性 ONOO<sup>-</sup> 还会进攻缺电子的硼原子发生苯硼酸基的水解得到 TPE-Ph-O<sup>-</sup> 产物,再通过电子转移失去醌酮,得到水解产物 TPE-O<sup>-</sup>,实现探针 NC-TPE-BOH 的氧化水解获得产物<sup>-</sup>O-TPE-COOH,该化合物在溶液的溶解度增大,引起了荧光猝灭。

图8 探针 NC-TPE-BOH 识别 ONOO<sup>-</sup> 的可能机理

## 3 结论

构建了一种基于四苯乙烯的双识别位点型“turn-off” ONOO<sup>-</sup> 荧光探针 NC-TPE-BOH。探针 NC-TPE-BOH 具有良好的聚集诱导效应,且探针的 DMSO/H<sub>2</sub>O (25 μmol/L, 体积比 1:4, PBS, pH=7.4) 溶液与 ONOO<sup>-</sup> 作用后,荧光猝灭比为 98.2%,实现了对 ONOO<sup>-</sup> 的特异选择性识别,检出限为  $4.34 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ , Stokes 位移为 195 nm,表现出较好的选择性和较高灵敏度。并通过核磁、质谱手段,证明探针 NC-TPE-BOH 的识别机制是由—C=N 双键氧化水解生成—COOH,以及苯硼酸基氧化水解后,再通过电子转移失去醌酮生成氧负离子生成物质<sup>-</sup>O-TPE-COOH,导致荧光猝灭。

## 参考文献

- [1] Zhu B, Zhang M, Wu L, *et al.* A highly specific far-red fluorescent probe for imaging endogenous peroxynitrite in the mitochondria of living cells [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 257: 436-441.
- [2] Li K B, Dong L, Zhang S, *et al.* Fluorogenic boronate-based probe-lactulose complex for full-aqueous analysis of peroxynitrite [J]. *Talanta*, 2017, 165: 593-597.
- [3] 马志伟, 周诗瑾, 王川川. 用于溶酶体定位的比率型次氯酸根探针的构建及应用研究 [J]. *化学试剂*, 2021, 43 (8): 1130-1135.
- [4] Guo B, Jing J, Nie L, *et al.* A lysosome targetable versatile fluorescent probe for imaging viscosity and peroxynitrite with different fluorescence signals in living cells [J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6 (4): 580-585.
- [5] Qu W, Niu C, Zhang X, *et al.* Construction of a novel far-red fluores-

- cence light-up probe for visualizing intracellular peroxynitrite [J]. *Talanta*, 2019, 197: 431–435.
- [6] Pacher P, Beckman J S, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease [J]. *Physiological Reviews*, 2007, 87(1): 315–424.
- [7] Chen Y R, Chen C L, Chen W, *et al.* Formation of protein tyrosine ortho-semiquinone radical and nitrotyrosine from cytochrome c-derived tyrosyl radical [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(17): 18054–18062.
- [8] Amatore C, Arbault S, Bruce D, *et al.* Characterization of the electrochemical oxidation of peroxynitrite; Relevance to oxidative stress bursts measured at the single cell level [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2001, 7(19): 4171–4179.
- [9] Daiber A, Oelze M, August M, *et al.* Detection of superoxide and peroxynitrite in model systems and mitochondria by the luminol analogue L-012 [J]. *Free Radical Research*, 2004, 38(3): 259–269.
- [10] Zhang J, Zhen X, Upputuri P K, *et al.* Activatable photoacoustic nanoprobes for in vivo ratiometric imaging of peroxynitrite [J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(6): 1604764.
- [11] Chu C, Lu X, Wang Z, *et al.* Cocktail polydrug nanoparticles concurrently release cisplatin and peroxynitrite-generating nitric oxide in cisplatin-resistant cancers [J]. *Chem Eng J*, 2020, 402: 126125.
- [12] Liu C, Duan Q, Zhang X, *et al.* A novel hepatoma-specific fluorescent probe for imaging endogenous peroxynitrite in live HepG2 cells [J]. *Sens Actuators, B*, 2019, 289: 124–130.
- [13] Hu J, Shao C, Wang X, *et al.* Imaging dynamic peroxynitrite fluxes in epileptic brains with a near-infrared fluorescent probe [J]. *Adv Sci*, 2019, 6(15): 1900341.
- [14] Wu D, Ru J C, Chuang Y W, *et al.* A far-red-emitting fluorescence probe for sensitive and selective detection of peroxynitrite in live cells and tissues [J]. *Anal Chem*, 2017, 89(20): 10924–10931.
- [15] Li J B, Chen L, Wang Q, *et al.* A bioluminescent probe for imaging endogenous peroxynitrite in living cells and mice [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(6): 4167–4173.
- [16] Wu Y, Shi A, Li Y, *et al.* A near-infrared xantheno fluorescence probe for monitoring peroxynitrite in living cells and mouse inflammation model [J]. *Analyst*, 2018, 143(22): 5512–5519.
- [17] Li J, Lim C S, Kim G, *et al.* Highly selective and sensitive two-photon fluorescence probe for endogenous peroxynitrite detection and its applications in living cells and tissues [J]. *Anal Chem*, 2017, 89(16): 8496–8500.
- [18] Zhou D Y, Li Y, Jiang W L, *et al.* A ratiometric fluorescent probe for peroxynitrite prepared by de novo synthesis and its application in assessing the mitochondrial oxidative stress status in cells and in vivo [J]. *Chem Commun*, 2018, 54(82): 11590–11593.
- [19] Cao J, An W, Reeves A G, *et al.* A chemiluminescent probe for cellular peroxynitrite using a self-immolative oxidative decarbonylation reaction [J]. *Chem Sci*, 2018, 9(9): 2552–2558.
- [20] Wang C, Shu W, Chen Q, *et al.* A simple dual-response fluorescent probe for imaging of viscosity and ONOO<sup>-</sup> through different fluorescence signals in living cells and zebrafish [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 260: 119990.
- [21] Wu L, Tian X, Han H H, *et al.* A Simple near-infrared fluorescent probe for the detection of peroxynitrite [J]. *Chemistry Open*, 2019, 8(12): 1407–1409.
- [22] Xia L, Tong Y, Li L, *et al.* A selective fluorescent turn-on probe for imaging peroxynitrite in living cells and drug-damaged liver tissues [J]. *Talanta*, 2019, 204: 431–437.
- [23] Zhao X, Jiang Y, Chen Y, *et al.* A new “off-on” NIR fluorescence probe for determination and bio-imaging of mitochondrial hypochlorite in living cells and zebrafish [J]. *Spectrochim Acta: Part A*, 2019, 219: 509–516.
- [24] Weber M, Mackenzie A B, Bull S D, *et al.* Fluorescence-based tool to detect endogenous peroxynitrite in M1-polarized murine J774.2 macrophages [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(17): 10621–10627. ■

(上接第 230 页)

- [11] Zhang M J, Chou J, Sun Z W, *et al.* Gas chromatography/mass spectrometry analysis of organic acid profiles in human serum: A protocol of direct ultrasound-assisted derivatization [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2021, 35(17): 9149–9157.
- [12] 于海龙, 车英慧, 高颖, 等. 气相色谱法测定唾液乳杆菌发酵过程中有机酸测定 [J]. *食品科学*, 2010, 31(S1): 133–137.
- [13] 赵一懿, 殷海利, 郭洪祝, 等. 基于多元统计分析的银杏叶提取物中有机酸类成分含量研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(14): 3679–3685.
- [14] 王俊德, 卢佩章. 色谱的发展对试剂的要求和希望 [J]. *化学试剂*, 1979, (3): 45–51, 43.
- [15] 陈钰祺, 徐玉娟, 林羨, 等. 不同成熟度及海拔地区刺梨果实营养活性成分比较 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(24): 9556–9564.
- [16] 王超, 吕文秀, 高京草, 等. 不同产地灰枣和骏枣干果风味研究 [J]. *果树学报*, 2021, 38(11): 1921–1929.
- [17] 陈艳杰. HPLC 法测定银杏叶提取物中 9 种小分子有机酸类含量研究 [J]. *粘接*, 2021, 48(12): 39–43.
- [18] 陈万超, 李文, 吴迪, 等. 11 个主栽品种香菇可溶性糖和有机酸测定及滋味品质评价 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43(7): 1–7.
- [19] 李晶, 郑喜群, 刘晓兰. 玉米浆发酵液对杏鲍菇营养价值和挥发性呈味物质含量的影响 [J]. *食品与机械*, 2021, 37(12): 46–51.
- [20] 任氢欣, 王继华, 曾齐, 等. 大豆根际踝节真菌 WR1-4 的溶磷特性研究 [J]. *农业生物技术学报*, 2022, 30(1): 114–124.
- [21] Gamble T N, Betlach M R, Tiedje J M. Numerically dominant denitrifying 352 bacteria from world soils [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1977, 33: 926–939. ■