

# 合成新型荧光增强型探针用于巯基蛋白质的检测

杨玲, 廖超强, 曹杰, 张学俊\*  
(中北大学理学院, 山西太原 030051)

**摘要:** 基于光致电子转移原理(Photoinduced Electron Transfer, PeT), 建立了以5-(4-马来酰亚胺基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉(MPTMPP)为荧光增强型探针, 对巯基蛋白质特异性进行检测。以吡咯、对硝基苯甲醛、对甲基苯甲醛等为主要原料合成了目标化合物MPTMPP, 并通过核磁、IR光谱等对MPTMPP进行表征; 探究了MPTMPP作为荧光探针对含有巯基的牛血清白蛋白(BSA)的特异性检测效果, 该探针对于BSA检测的线性范围为 $0 \sim 2.0 \times 10^{-8}$  mol/L, 线性方程为 $\Delta F = 68.588 + 36.524[\text{BSA}] (10^{-8} \text{ mol/L})$ , 相关系数为0.9969, 检出限为0.037 nmol/L。

**关键词:** 卟啉; 马来酰亚胺; 荧光探针; 荧光增强; 牛血清白蛋白

中图分类号: 0656

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2016)03-0178-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2016.03.045

## Synthesis of new fluorescence-enhanced probe for detection of thiol proteins

YANG Ling, LIAO Chao-qiang, CAO Jie, ZHANG Xue-jun\*

(College of Science, North University of China, Taiyuan 030051, China)

**Abstract:** 5-(4-Maleimidophenyl)-10,15,20-tri-(4-methylphenyl) porphyrin (MPTMPP) is synthesized by using pyrrole, 4-nitrobenzaldehyde and 4-methylbenzaldehyde as the main raw materials, which is characterized by NMR, FTIR, etc. It is then used as a fluorescence-enhanced probe for specific detection of thiol-proteins based on the principle of photoinduced electron transfer (PET). The specific detection effect of BSA is performed. The linear range for detection of BSA is  $0 \sim 2.0 \times 10^{-8}$  mol/L with linear equation as  $\Delta F = 68.588 + 36.524[\text{BSA}] (10^{-8} \text{ mol/L})$  and correlation coefficient as 0.9969. The detection limit for BSA is 0.037 nmol/L.

**Key words:** porphyrin; maleimide; fluorescence probe; fluorescence-enhancing; BSA

巯基蛋白是生物体内重要的组成部分, 具有一定的抗氧化能力, 能保护细胞防止被氧化, 起到解毒, 增强免疫力, 延缓衰老及抗癌等功能<sup>[1-3]</sup>, 另外, 巯基蛋白质在临床上也是许多疾病的危险指标<sup>[4]</sup>, 因此, 巯基蛋白质的检测对生物体有着重要的意义。

荧光探针具有灵敏度高, 选择性好, 体积小, 受生物体内活性小分子及金属离子干扰小等优点, 近年来发展十分迅速<sup>[5]</sup>。如今常用作荧光探针的化合物有BODIPY衍生物、香豆素、荧光素、苯并杂环类化合物等<sup>[6-7]</sup>。卟啉除了具有良好的光学性质, 荧光效率高等优点之外, 还具有生物相容性好, 对细胞的毒性小, 这些特点使其可作为荧光探针用于生

物体内大分子的检测<sup>[8-9]</sup>。

笔者以吡咯、对硝基苯甲醛、对甲基苯甲醛等为主要原料, 采用Adler-Longo合成法经过3步反应合成了荧光增强型探针5-(4-马来酰亚胺基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉(MPTMPP)<sup>[10-11]</sup>, MPTMPP的合成路线如图1所示。在光激发下, 卟啉大环的激发态电子向马来酰亚胺转移, PeT过程发生, 使得卟啉荧光强度降低。当马来酰亚胺基的碳碳双键与巯基发生加成反应, PeT过程被打断<sup>[12-13]</sup>, d-PeT机理如图2所示, 体系的荧光强度增强, 荧光强度的变化与巯基的浓度成线性关系。利用MPTMPP作荧光探针能够对含有巯基的牛血清白蛋白进行识别和定量检测。

收稿日期: 2015-08-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51272239); 山西省自然科学基金资助项目(2011011022-4); 山西省回国留学人员科研资助项目(2015-078)

作者简介: 杨玲(1988-), 女, 硕士生, 主要从事功能高分子材料的制备与性能研究, 1032739554@qq.com; 张学俊(1971-), 男, 博士, 副教授, 主要从事功能高分子材料的制备与性能研究, 通讯联系人, zhangxuejun@nuc.edu.cn。

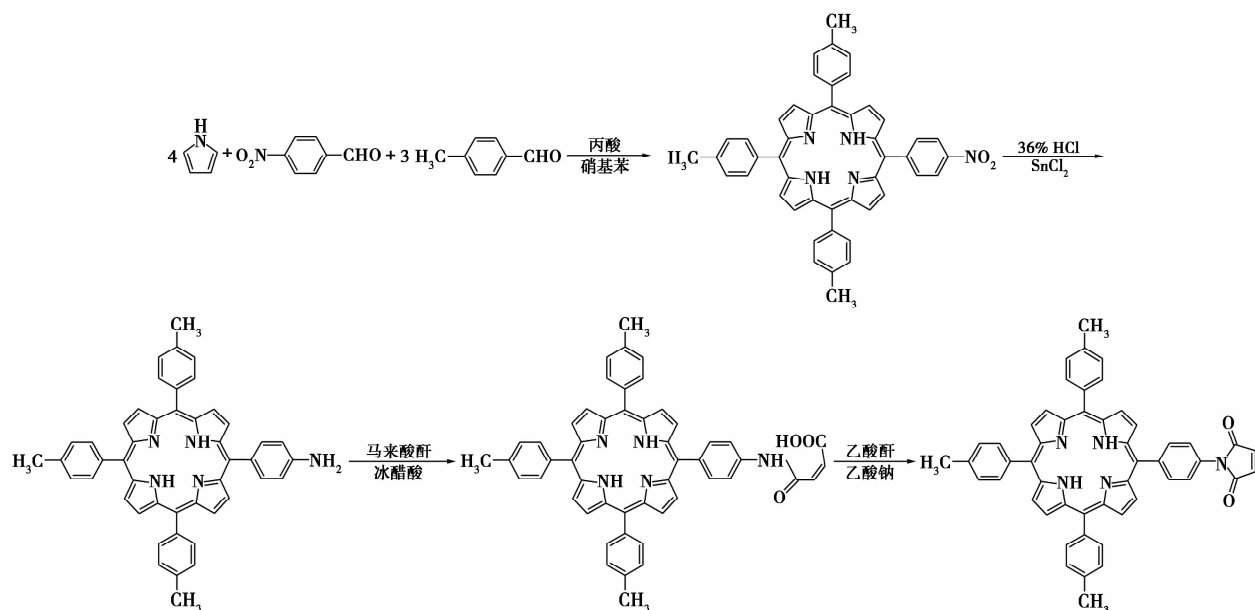


图1 5-(4-马来酰亚胺基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉的合成路线

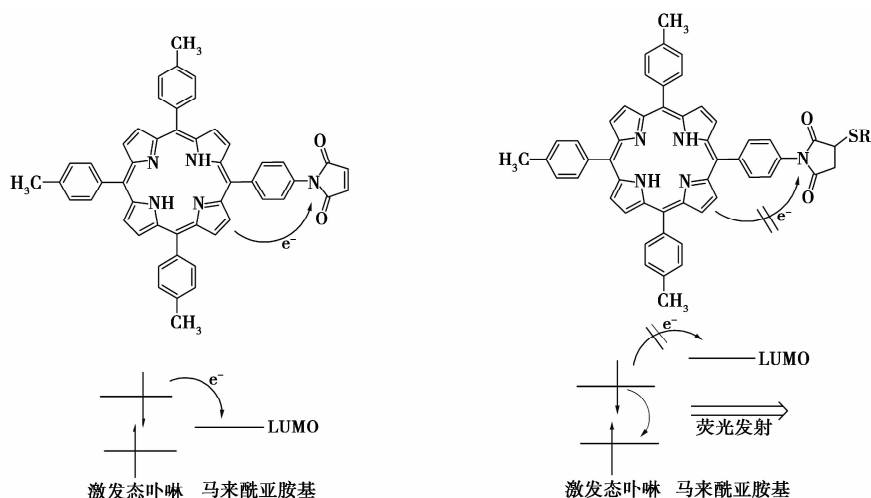


图2 d-PeT 机理图

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

HITACHI F-2500 荧光光度计, 日本日立公司生产; Unity-400 核磁共振仪, 美国 Varian Inova 公司生产; FI-TR4800S 红外光谱仪, 日本岛津研究所生产; Perkin-Elmer 2400 元素分析仪, 美国 PE 公司生产。

对硝基苯甲醛、对甲基苯甲醛、吡咯、顺丁烯二酸酐、牛血清白蛋白, 分析纯, 上海晶纯生化科技股份有限公司生产; 硝基苯、丙酸、二氯化锡、浓盐酸、乙酸酐、乙酸钠, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂生产。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 5-(4-硝基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉(单体1)的合成

将4-硝基苯甲醛(1.208 g, 8 mmol)和4-甲基

苯甲醛(2.88 g, 24 mmol)溶解在150 mL 丙酸和10 mL 硝基苯的混合溶液中, 搅拌, 加热至回流。然后10 min内, 将(2.15 g, 32 mmol)吡咯滴加到该溶液中, 滴加完后再搅拌45 min, 冷却到室温, 向溶液中加入200 mL 甲醇。静置过夜, 抽滤, 用热水和乙醇反复洗涤滤饼。经TLC检测,  $V(\text{二氯甲烷}): V(\text{石油醚}) = 5:1$ 为洗脱剂, 通过硅胶柱对粗产物进行提纯, 最后得到0.94 g 紫色固体, 产率为16.8%, 熔点 $>300^\circ\text{C}$ 。

#### 1.2.2 5-(4-氨基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉(单体2)的合成

在氮气保护下, 将0.88 g(0.25 mmol) 5-(4-氨基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉溶于60 mL 浓盐酸中, 10 min内滴加20 mL 溶有二氯化锡的浓盐酸, 在 $67^\circ\text{C}$ 下反应2.5 h。冷却至室温, 加

入 200 mL 蒸馏水,将 pH 调至 8~9 之间抽滤,用蒸馏水反复洗涤滤饼,真空干燥,用二氯甲烷作洗脱剂,通过硅胶柱对粗产物进行提纯,得到亮紫色固体 0.63 g,产率为 75%。

### 1.2.3 5-(4-马来酰亚胺基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉(MPTMPP)的合成

将 5-(4-氨基苯基)-10,15,20-三(4-甲基苯基)卟啉(0.21 g, 0.31 mmol)和顺丁烯二酸酐(73.6 mg, 0.74 mmol)溶于 20 mL 硝基苯中,在恒定速率下搅拌加热到 100℃,继续反应 22 h,该反应过程避免与水接触。反应结束后冷却至室温,加入 30 mL 正己烷,待沉淀析出后抽滤,用正己烷反复洗涤滤饼,真空干燥。称取干燥好的固体(0.16 g, 0.21 mmol)溶于 15 mL 醋酸酐中,然后加入醋酸钠(22.4 mg, 0.273 mmol),将混合物加热到 100℃,反应 3.5 h。反应结束后,将反应液放入冰水浴中,待有沉淀析出后,抽滤,将滤饼用蒸馏水反复洗涤,粗产品先用  $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{石油醚})=5:1$  的混合溶液洗脱,然后依次用四氢呋喃和甲醇洗脱,最终得到紫黑色固体 0.13 g,产率为 84%。

### 1.2.4 荧光光谱的测定方法

准确称取 MPTMPP 样品,用 DMF 配制成  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 的溶液备用。牛血清白蛋白用二次蒸馏水配置成  $1 \times 10^{-6}$  mol/L 的溶液,放置于 1℃ 冰箱中保存备用。

于 10 mL 比色管中依次加入 DMF 溶解的 MPTMPP 溶液、磷酸盐缓冲溶液(pH 为 7.4,浓度为 0.1 mol/L)、不同浓度牛血清白蛋白水溶液(1 mL)。二次蒸馏水定容至 10 mL,摇匀,室温反应一定时间。采用 HITACHIF-2500 荧光光度计检测激发波长  $\lambda_{\text{ex}}=327$  nm 和发射波长  $\lambda_{\text{em}}=655$  nm 处的荧光强度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 产物结构表征

#### 2.1.1 红外光谱分析

单体 1:IR(KBr), $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$ :3 500(吡咯 N—H 伸缩振动);3 100(苯环 N—H 伸缩振动);2 920、2 860(甲基的对称伸缩振动和反对称伸缩振动);1 595、1 465(苯环特征吸收);1 498(C—N 伸缩振动);1 320、1 550(硝基的对称伸缩振动和反对称伸缩振动);780(苯环的面外弯曲振动)。

单体 2:IR(KBr), $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$ :3 275(吡咯 N—H 伸缩振动);3 090(苯环 C—H 伸缩振动);2 905、2 810

(甲基的对称伸缩振动和反对称伸缩振动);1 580、1 455(苯环特征吸收);1 385(C—N 伸缩振动);775(苯环的面外弯曲振动)。

MPTMPP:IR(KBr), $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$ :3 340(吡咯 N—H 伸缩振动);3 090(苯环 C—H 伸缩振动);2 910、2 830(甲基的对称伸缩振动和反对称伸缩振动);1 710(羰基伸缩振动);1 500、1 455(苯环特征吸收);1 365(C—N 伸缩振动);770(苯环的面外弯曲振动)。

#### 2.1.2 产物<sup>1</sup>HNMR 分析

单体 1:<sup>1</sup>HNMR(400 MHz, DMSO, ppm):8.78(m, 8H,  $\beta$ -pyrrole), 8.48(d, 4H), 8.13(d, 6H,  $m$ -Ph), 7.69(d, 6H,  $o$ -Ph), 2.53(s, 9H, Me-H), -2.91(s, 2H, NH)。

单体 2:<sup>1</sup>HNMR(400 MHz, DMSO, ppm):8.65(m, 8H,  $\beta$ -pyrrole), 8.11(d, 6H,  $m$ -Ph), 7.68(d, 6H,  $o$ -Ph), 7.63(d, 4H), 4.01(s, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.51(s, 9H, Me-H), -2.94(s, 2H, NH)。

MPTMPP:<sup>1</sup>HNMR(400 MHz, DMSO, ppm):8.85(d, 2H, —C=C—), 8.67(m, 8H,  $\beta$ -pyrrole), 8.50(d, 4H), 8.10(d, 6H,  $m$ -Ph), 7.64(d, 6H,  $o$ -Ph), 2.48(s, 9H, Me-H), -2.95(s, 2H, NH)。

#### 2.1.3 产物元素分析

单体 1: $\text{C}_{47}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_2$ , 实际值(计算值),%:C 80.36(80.43);H 5.08(5.03);N 10.02(9.98)。

单体 2: $\text{C}_{47}\text{H}_{37}\text{N}_5$ , 实际值(计算值),%:C 83.95(84.02);H 5.58(5.55);N 10.47(10.42)。

MPTMPP: $\text{C}_{51}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$ , 实际值(计算值),%:C 81.42(81.47);H 5.01(4.96);N 9.29(9.31)。

## 2.2 MPTMPP 荧光探针法检测 BSA 的条件优化

### 2.2.1 反应时间和温度的影响

考察了反应时间和温度对 MPTMPP 与 BSA 结合的影响,结果发现,反应速度较快,在室温下反应 10 min 就能达到平衡,这时体系荧光强度达到最大、最稳定。

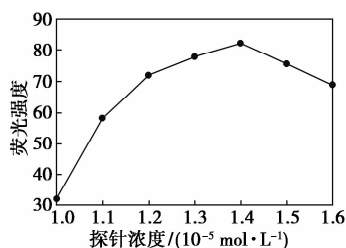
### 2.2.2 pH 对 BSA 检测的影响

BSA 一般在生理状态下(pH = 7.4)存在,过酸或过碱都有可能对 BSA 的结构造成破坏。因此,考察了 pH 为 7.4 时 MPTMPP 探针对 BSA 的检测。

### 2.2.3 MPTMPP 探针浓度的影响

在 BSA 的浓度为  $0.75 \times 10^{-8}$  mol/L,缓冲溶液 pH = 7.4 的条件下,考察了 MPTMPP 探针的浓度对 MPTMPP 探针-BSA 体系荧光强度的影响,如图 3 所示。从图 3 中可以看出,随着 MPTMPP 探针浓度的

增加,体系荧光强度呈现先增大后降低的趋势,当MPTMPP探针的浓度为 $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L时,体系荧光强度最大。因此,考察了MPTMPP探针浓度为 $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L时对BSA的检测。

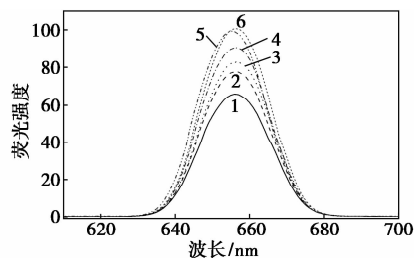


注:磷酸盐缓冲溶液浓度为 $0.1$  mol/L ( $\text{pH}=7.4$ ), BSA的浓度为 $0.75 \times 10^{-8}$  mol/L,检测波长为 $655$  nm。

图3 MPTMPP探针的浓度对荧光强度的影响

#### 2.2.4 MPTMPP探针与BSA响应的线性关系

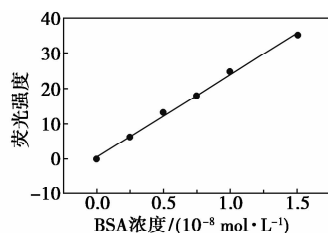
在 $\text{pH}=7.4$  (磷酸盐缓冲溶液浓度为 $0.1$  mol/L), MPTMPP探针浓度为 $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L的条件下,测试了MPTMPP探针对不同浓度的BSA的响应以及MPTMPP空白探针的荧光强度,如图4所示。



注:探针浓度为 $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L,磷酸盐缓冲溶液浓度为 $0.1$  mol/L ( $\text{pH}=7.4$ ),曲线1,2,3,4,5,6分别表示BSA浓度为 $0, 0.25 \times 10^{-8}, 0.5 \times 10^{-8}, 0.75 \times 10^{-8}, 1.0 \times 10^{-8}, 2.0 \times 10^{-8}$  mol/L,检测波长为 $655$  nm时,体系的荧光强度。

图4 MPTMPP探针对不同浓度的BSA的响应

从图4中可以看出,随着BSA浓度的增加,在 $655$  nm处的荧光强度逐渐增大。当BSA浓度从 $0 \sim 2.0 \times 10^{-8}$  mol/L变化时,探针在 $655$  nm处的荧



注:探针浓度为 $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L,磷酸盐缓冲溶液浓度为 $0.1$  mol/L ( $\text{pH}=7.4$ ),BSA浓度为 $0 \sim 2.0 \times 10^{-8}$  mol/L,检测波长为 $655$  nm。

图5 荧光强度和BSA浓度的线性关系

光强度和BSA的浓度之间有良好的线性关系,如图5所示。线性方程 $\Delta F = 0.555 + 23.406 [\text{BSA}]$  ( $10^{-8}$  mol/L) ( $\Delta F = F - F_0$ ,  $F_0$ 为空白探针的荧光强度, $F$ 为探针与BSA作用后的荧光强度),相关系数 $R=0.9969$ ,检出限为 $0.037$  nmol/L。说明探针在 $\text{pH}=7.4$ 的条件下可以对BSA的微弱变化进行检测。

#### 2.2.5 干扰离子的影响

在利用该探针检测细胞内的巯基蛋白质时,由于细胞内环境很复杂,因此要考察细胞内金属离子以及小分子化合物对MPTMPP探针的潜在影响。实验选择MPTMPP探针浓度为 $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L,BSA浓度为 $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L,测定了生物体内重金属离子及小分子对MPTMPP探针的影响,结果如表1所示。测定结果允许相对误差不超过 $\pm 10\%$ 。从表1中可以看出,当有金属离子或小分子化合物存在时,不会影响MPTMPP探针对巯基蛋白质的检测。

表1 生物体内重金属离子及小分子对MPTMPP探针的影响

干扰物质	对照	$\text{Na}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{H}_2\text{O}_2$	$\text{K}^+$	Vc
相对荧光强度	1	0.983	0.968	0.937	0.907	0.886
干扰物质	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Fe}^{2+}$	NaClO	$\text{Fe}^{3+}$	
相对荧光强度	0.855	0.832	0.802	0.785	0.767	

表1对照组为 $\text{pH}=7.4$ 时, $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L的MPTMPP探针与 $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L的BSA溶液常温下作用 $10$  min后的荧光强度。其他组代表在对照组的基础上分别加入不同浓度的干扰物质后的荧光强度,其中 $\text{Na}^+$  ( $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L); NaOCl ( $8.0 \times 10^{-6}$  mol/L);  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $5 \times 10^{-6}$  mol/L);  $\text{Fe}^{2+}$  ( $5 \times 10^{-6}$  mol/L); Vc ( $1.5 \times 10^{-6}$  mol/L);  $\text{Fe}^{3+}$  ( $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L)。

### 3 结论

采用Adler-Longo法合成了MPTMPP探针。通过 $^1\text{H NMR}$ 、IR光谱等验证了单体和MPTMPP探针的结构与预期的一样;通过荧光探针证明了MPTMPP探针能够对牛血清白蛋白(BSA)的微小变化作出高灵敏的检测。MPTMPP探针对BSA的检测范围为 $0 \sim 2.0 \times 10^{-8}$  mol/L,线性方程为 $\Delta F = 68.588 + 36.524 [\text{BSA}]$  ( $10^{-8}$  mol/L),相关系数为 $0.9969$ ,检出限为 $0.037$  nmol/L。该荧光探针法简单、快速、灵敏度高,而且,马来酰亚胺吡啶类化合物作为荧光探针检测巯基蛋白质具有广阔的应用前景。

(下转第183页)

识别分类提供理论依据。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与仪器

塑料样本主要来源于生活中常见的各种塑料制品以及废旧家电、机电及电子产品拆解后得到的各种塑料,包括 PE、PP 和 PET。总共收集到 361 个塑料样本,包括 PE 样本 123 个,PP 样本 132 个,PET 样本 106 个。其中,样本集 256 个,用于建立识别模型,包括 PE 样本 88 个,PP 样本 92 个,PET 样本 76 个;预测集 105 个,用于检验模型,包括 PE 样本 35 个,PP 样本 40 个,PET 样本 30 个。

由于黑色样本的吸收率较强,而透明样本的反射率太强,采集的光谱数据起伏太大,不适合数据分析,因此,在本次实验中,以白色的塑料样本为主。

仪器选用芬兰 SPECIM 公司生产的 SWIR 成像光谱仪,型号为 N17E,光谱范围 900 ~ 1 700 nm,光谱分辨率为 5 nm,图像分辨率为 320 × 256 pixel,光谱仪帧数为 100 fps,光源使用 2 个 200 W 的卤钨灯。

### 1.2 光谱数据的校正与提取

采样时,曝光时间设定为 30 ms,帧数设定为 30 fps,平台移动速度为 2 cm/s,镜头距离样本的垂直距离为 34 cm。

关闭光源并用不透明的盖子完全盖住相机的镜头获得全黑图像,以消除相机 CCD 传感器暗电流的影响;在采集光谱数据的同时设置标准白板,获得同等条件下的白板光谱图像以消除光线的影响。

计算黑白校正图像的相对反射率  $R$ :

$$R = [(R_0 - B) / (W - B)] \times 100\% \quad (1)$$

其中: $R$  为黑白校正图像的相对反射率; $R_0$  为原始高光谱图像; $W$  为标准白板高光谱图像(反射率为 99%); $B$  为全黑图像(反射率为 0%)<sup>[5]</sup>。

使用 ENVI4.7 软件提取黑白校正过的高光谱图像的光谱反射率数据。选择塑料样本上的感兴趣区域(region of interest, ROI)内的光谱数据,即所选区域内所有像素点的平均反射率光谱。尽量选取能代表塑料样本特征的 ROI,实验中,选取 30 × 30 个像素点<sup>[6]</sup>。

实验发现,在 900 ~ 1 000 nm 范围光谱起伏较大,存在噪声干扰,因此提取 1 000 ~ 1 700 nm 波段的光谱数据,共 209 个波段的高光谱数据。

### 1.3 PE、PP 和 PET 的光谱特征

典型 PE、PP 与 PET 样本在近红外波段 1 000 ~ 1 700 nm 范围的光谱特征如图 1 所示。由图 1 可知,3 种样本在 1 125 ~ 1 225、1 375 ~ 1 425、1 525 ~ 1 575、1 625 ~ 1 675 nm 范围内的反射率光谱图像有着各自明显的特征<sup>[7]</sup>。

(上接第 181 页)

### 参考文献

- [1] Pullela P K, Chiku T, Carvan M J S, et al. Fluorescence-based detection thiols in vitro and in vivo using dithiol probes[J]. Anal-Biochem, 2006, 352(2): 265 - 273.
- [2] Tang Bo, Xing Yanlong. A rhodamine-based fluorescent probe containing a Se-N bond for detecting thiols and its application in living cells[J]. J Am Chem Soc, 2007, 129(38): 11666 - 11667.
- [3] Chusen Huang, Qin Yin. Highly selective fluorescent probe for vicinal-dithiol-containing proteins and in situ imaging in living cells [J]. Angew Chem Int Ed, 2011, 50(33): 7551 - 7556.
- [4] Jun Yin, Younghee Kwon. Cyanine-based fluorescent probe for highly selective detection of glutathione in cell cultures and live mouse tissues[J]. J Am Chem Soc, 2014, 136(14): 5351 - 5358.
- [5] Haijun Cuia, Hua Chen. A two-photon fluorescent turn-on probe for palladium imaging in living tissues[J]. Sensors and Actuators B, 2015, 219: 232 - 237.
- [6] Murat Isşık, Ruslan Guliyev, Safacan Kolemen. Designing an intracellular fluorescent probe for glutathione: Two modulation sites for selective signal transduction[J]. Org Lett, 2014, 16(12): 3260 - 3263.

- [7] Jun Yin, Younghee Kwon, abin Kim. Cyanine-based fluorescent probe for highly selective detection of glutathione in cell cultures and live mouse tissues [J]. J Am Chem Soc, 2014, 136(14): 5351 - 5358.
- [8] Huan Y F, Fei Q. A novel water-soluble sulfonated porphyrin fluorescence sensor for sensitive assays of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and glucose [J]. Analyst, 2015, 140(5): 1655 - 1661.
- [9] 陈欣, 赵燕芳, 李茹. 金属锌卟啉荧光光谱探针与蛋白质的研究与应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(10): 247 - 348.
- [10] 罗凯. 席夫碱卟啉的合成及其光谱性能的研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2008.
- [11] Fang Liu, Annie Soh Yan Ni. Lipopolysaccharide neutralizing peptide porphyrin conjugates for effective photoinactivation and intracellular imaging of gram-negative bacteria strains [J]. Bioconjugate Chem, 2012, 23(8): 1639 - 1647.
- [12] Ste'phane Girouard, Marie-He' le'ne Houle, Alain Grandbois. Synthesis and characterization of dimaleimide fluorogens designed for specific labeling of proteins [J]. J Am Chem Soc, 2005, 127(2): 559 - 566.
- [13] Qiuning Lin, Chunyan Bao. Target-Activated coumarin phototriggers specifically switch on fluorescence and photocleavage upon bonding to thiol-bearing protein [J]. J Am Chem Soc, 2012, 134(11): 5052 - 5055. ■