

水溶性荧光探针在氨基酸分子识别中的研究进展

余康^{1a}, 许志勇^{1a}, 安建平², 朱园园^{*1b}, 古双喜^{*1a}

(1. 武汉工程大学 a. 绿色化学过程教育部重点实验室, 新型反应器与绿色化学工艺湖北省重点实验室, 化工与制药学院;
b. 化学与环境工程学院, 湖北 武汉 430205; 2. 湖北省染料中间体产业技术研究院, 湖北 石首 434400)

摘要: 氨基酸作为一类重要的生物小分子, 既是构成蛋白质的基本单元, 同时也参与多种生理过程, 包括神经系统调节、免疫功能调节及能量供应等。此外, 光学纯的氨基酸还可以作为不对称合成与催化的手性源和手性配体。因此, 氨基酸的化学选择性和对映选择性识别在生命医药和不对称合成领域均有深远的研究意义。基于荧光探针高灵敏性、实时性和易于操作的优势, 以及分析底物氨基酸的优良水溶性, 开发水相中对氨基酸具有优异分子识别能力的荧光探针是一项重要的工作。综述了近五年应用于氨基酸分子识别的水溶性荧光探针研究进展, 并展望了该领域的研究方向。

关键词: 氨基酸; 荧光探针; 水溶性; 分子识别; 化学选择性; 对映选择性

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2024)09-0053-13

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0284

Research Progress of Water-soluble Fluorescent Probes for Molecular Recognition of Amino Acids YU Kang^{1a}, XU Zhi-yong^{1a}, AN Jian-ping², ZHU Yuan-yuan^{*1b}, GU Shuang-xi^{*1a} (1a. School of Chemical Engineering & Pharmacy, Hubei Key Laboratory of Novel Reactor and Green Chemical Technology, Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, 1b. School of Chemistry and Environmental Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China; 2. Hubei Industrial Technology Institute of Dye Intermediates, Shishou 434400, China)

Abstract: As an important class of small biological molecules, amino acids are basic units of proteins, participating in a variety of physiological processes, including nervous system regulation, immune function regulation and energy supply. On the other hand, optically pure amino acids can be used as chiral sources and chiral ligands for asymmetric synthesis and catalysis. Therefore, the chemical and enantioselective recognitions of amino acids have great research significance in the fields of biomedicine and asymmetric synthesis. Based on the advantages of high sensitivity, real-time performance and easy operation of fluorescent probes, as well as the excellent water solubility of the amino acids as analytical substrates, it is an important work to develop fluorescent probes with high molecular recognition ability for amino acids in the aqueous phase. The research progress of water-soluble fluorescent probes used in molecular recognition of amino acids in recent five years was summarized and discussed, and the research direction in this field was prospected.

Key words: amino acid; fluorescent probe; water solubility; molecular recognition; chemoselectivity; enantioselectivity

氨基酸作为构成生物体的重要分子之一, 其不仅是蛋白质的组成单元, 也是细胞构建和组织修复的基础物质。不同种类的氨基酸在生物体内发挥着不同的功能。例如, 半胱氨酸在信号传导、可逆氧化还原以及细胞凋亡等过程中发挥着重要的作用^[1]; 苯丙氨酸是合成酪氨酸、多巴胺、黑色素、肾上腺素和苯丙酮酸的前体。同时, 氨基酸也是一类重要的手性分子。D-氨基酸与其 L-对映体具有相似的物理和化学特性, 但两者在生物学功能上却有显著差异。例如 L-赖氨酸能够参与脂肪代谢和营养吸收^[2]; D-赖氨酸已被用于合成促黄体生成素释放激素类似物^[3]; L-色氨酸是血清素、褪黑素和烟酸的合成前体。另外, 手性氨基酸在医药工业中也有广泛的应用^[4], 还是保健品

和动物饲料常用的合成原料。同时手性氨基酸还被用作不对称合成的手性前体和手性催化剂配

收稿日期: 2024-05-04; 网络首发日期: 2024-06-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(22074114, 22377097); 磷资源开发利用教育部工程研究中心开放基金项目(LCX202305); 武汉工程大学研究生教学研究项目(2022JYXM09, 2021JYXM07)。

作者简介: 余康(1999-), 男, 湖北武汉人, 硕士生, 主要研究方向为手性荧光识别。

通讯作者: 朱园园, E-mail: yyzhu531@163.com; 古双喜, E-mail: shuangxigu@163.com。

引用本文: 余康, 许志勇, 安建平, 等. 水溶性荧光探针在氨基酸分子识别中的研究进展[J]. 化学试剂, 2024, 46(9): 53-65。

体^[5-7]。因此,氨基酸的化学选择性以及对映选择性检测具有十分重要的意义。目前,氨基酸的常用检测方法包括色谱法、毛细管电泳法、核磁共振法和 X-射线衍射法等^[8-12]。传统的分析方法因操作复杂、分析成本高、测试时间长等缺点,在应用中存在一定的局限性。而荧光分析法具有高灵敏性、实时性及操作简单等优点受到科研工作者的广泛关注^[13-16]。另外,由于大多数氨基酸具有优良水溶性,且水相中的检测能大大消除脂溶性物质对荧光的干扰,因此水相中氨基酸的化学及对映选择性分析具有极大的优势和应用潜力。

本文综述了近五年来,关于水相中氨基酸荧光识别与分析的研究进展,将分别从荧光探针对于氨基酸的化学选择性和对映选择性两个方面来进行阐述,并分别从氨基酸的类别来进行细分。

1 氨基酸的化学选择性识别与分析

1.1 半胱氨酸(Cysteine, Cys)

Cys 是组成蛋白质的一种重要亲核性氨基酸,在维持生物系统的稳定中发挥着重要的作用。研究发现,细胞内的 Cys 水平异常与许多疾病有关,如生长迟缓、心血管疾病、阿尔茨海默症以及癌症^[1,17],因此生物体中 Cys 的检测对相关疾病的诊疗具有重要意义。

2019 年,Zhang 等^[18]设计并合成了近红外荧光探针 1,并研究了其在水溶液和细胞中对 Cys 的荧光响应(图 1)。探针分子结构中引入的吡啶鎓盐片段与吗啉基团提高了探针 1 的水溶性。

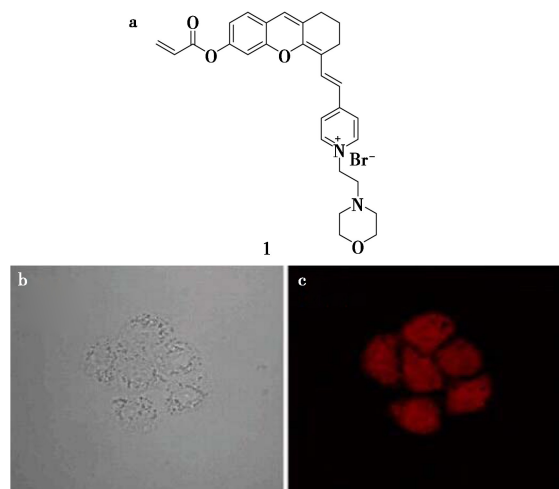


图 1 探针 1 的分子结构(a)及探针 1(b)和探针 1+Cys(c)的荧光成像^[18]

Fig.1 Structure (a) of probe 1 and fluorescence imagings of probe 1 (b) and probe 1+Cys (c)^[18]

探针 1 的 PBS(pH 7.4)缓冲溶液中加入 Cys 后,530 nm 波长激发下,在 674 nm 呈现出强的荧光响应,斯托克斯位移为 144 nm。随后的竞争性实验表明在其他天然氨基酸以及硫离子的干扰下,探针 1 仍能对水相中的 Cys 表现出良好的选择性和灵敏性。另外,细胞成像结果表明,探针 1 可以在近红外区对 HeLa 细胞中的 Cys 进行荧光成像。

2019 年,Wang 等^[19]对水溶性荧光素骨架进行修饰,通过引入丙烯酸酯基和醛基两个氨基酸识别基团,设计合成了探针 2(图 2),并将其用于水溶液中 Cys 的识别。引入的双识别基团能够提高探针对于 Cys 的灵敏度和特异性。探针分子 2 在 pH 5.0~9.0 的缓冲溶液中均能对半胱氨酸产生明显的荧光响应,在 HEPES 缓冲溶液(pH 6.8)中对 Cys 的检出限为 6.7×10^{-8} mol/L。探针 2 与 Cys 反应 5s 后就能产生明显的绿色荧光而与同型半胱氨酸(Hcy)以及谷胱甘肽(GSH)反应只有微弱荧光,这个明显的荧光强度差异可以使我们通过肉眼识别 Cys。探针 2 还能够用于细胞中 Cys 的成像且不受 Hcy、GSH 以及 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^{-} 、 CO_3^{2-} 等离子的干扰。

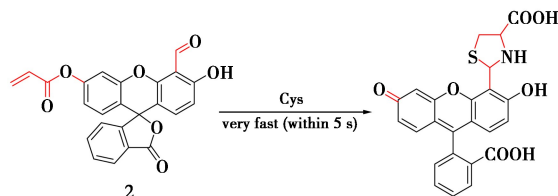


图 2 探针 2 对 Cys 的识别机理^[19]

Fig.2 Recognition mechanism of probe 2 for Cys^[19]

2019 年,Tang 等^[20]设计合成了新型吡啶盐苯并噻唑探针 3(图 3),并以丙烯酸酯作为氨基酸识别基团。分子结构中引入的吡啶盐亲水片段不仅能够提高探针 3 的水溶性,还有利于探针 3 靶向检测线粒体中的 Cys。在 Tris-HCl(1% DM-SO, pH 7.0)缓冲溶液中,探针 3 只具有微弱的荧光,但加入 Cys 后,397 nm 波长激发下,在 607 nm 显示出强的荧光响应,斯托克斯位移为 210 nm,

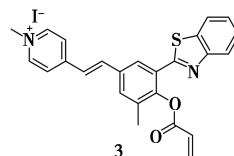


图 3 探针 3 的结构^[20]

Fig.3 Structure of probe 3^[20]

水相中探针 3 对 Cys 的检出限为 1.2×10^{-7} mol/L。并且探针 3 还能够在 MCF-7 细胞中对内源性和外源性 Cys 进行荧光成像,且具有中等靶向线粒体的能力。

2020 年, Li 等^[21] 设计并合成了近红外荧光探针 4(图 4), 并用于检测水溶液以及细胞中的 Cys。探针 4 引入的噻唑鎓盐亲水片段增大了其水溶性。探针 4 的 PBS(1% DMSO, pH 7.4) 缓冲溶液中加入 Cys 后, 584 nm 波长激发下, 在 720 nm 具有强的荧光发射峰, 且荧光强度与 Cys 呈线性关系, 其对 Cys 的检出限为 2×10^{-7} mol/L。但由于探针 4 对 Hcy 具有弱的荧光响应, 导致 Cys 的检测过程会受到微弱干扰。另外, BEL-7402 细胞中荧光成像结果表明, 该探针可以用于监测内源性 Cys 的浓度变化。

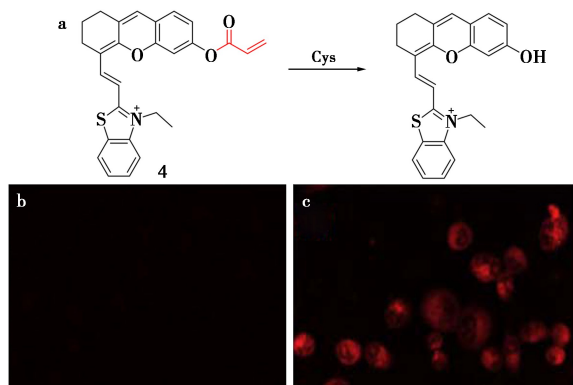


图 4 探针 4 对 Cys 的识别机理(a)及探针 4(b)和探针 4+Cys(c)在细胞中的荧光成像^[21]

Fig.4 Recognition mechanism (a) of probe 4 for Cys and fluorescence imaging in cells probe 4 (b) and probe 4+Cys (c)^[21]

2020 年, Yang 等^[22] 设计并合成了一种氧杂蒽类衍生物的比率荧光探针 5(图 5), 并用于靶向检测线粒体中的 Cys。作者通过对探针分子中

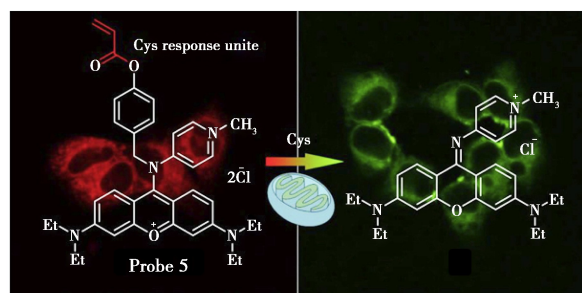


图 5 探针 5 对 Cys 的识别机理及其细胞中荧光成像图^[22]

Fig.5 Recognition mechanism of probe 5 for Cys and fluorescence imaging in cells^[22]

吡啶环和氧杂蒽环进行成盐改造, 来提高探针分子的水溶性, 同时也增大了对细胞膜的穿透性。在 PBS(1% DMSO, pH 7.4) 缓冲溶液中, 探针 5 对 Cys 在 605 和 540 nm 处发射峰强度的比值 ($F_{605 \text{ nm}}/F_{540 \text{ nm}}$) 与 Cys 浓度呈线性关系, 且对 Cys 的检出限为 3.4×10^{-8} mol/L。探针 5 能够通过双通道生物成像检测 HeLa 细胞中的内源性 Cys。

2020 年, Liu 等^[23] 对 (2-(2'-羟基苯基)-4(3H)-喹唑啉酮(HPQ)荧光团进行改造, 将 HPQ 的酚羟基替换为亲水基团, 最终合成了水溶性探针 6。在 PBS(pH 7.2) 缓冲溶液中, 探针 6 没有荧光, 而与 Cys 反应后生成具有强荧光响应且不溶于水的沉淀产物(图 6)。在 10% 牛血清以及河水这两种实际样品中, 探针 6 对 Cys 均表现出优异的化学选择性。由于生成的沉淀不易扩散, 探针 6 能够实现 HeLa 细胞内源性 Cys 的原位荧光成像。

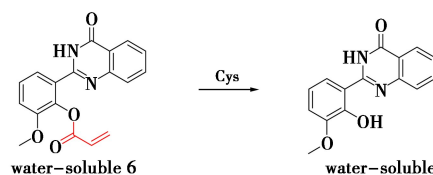


图 6 探针 6 对 Cys 的识别机理^[23]

Fig.6 Recognition mechanism of probe 6 for Cys^[23]

2021 年, Li 等^[24] 使用丙烯酰氯片段修饰水溶性花青素荧光团得到荧光探针 7(图 7), 并将其用于细胞溶酶体和核仁中的 Cys 检测, 另外, 探针与 Cys 作用后释放出的荧光团可以用于定位溶酶体和核仁。该探针与 Cys 在 PBS(1% DMSO) 缓冲溶液中作用后, 570 nm 激发时, 在 620 nm 处产生明显的荧光增强, 且荧光响应强度与 Cys 浓度呈线性关系, 探针 7 对 Cys 的检出限为 2.43×10^{-7} mol/L。细胞荧光成像结果显示探针 7 可以快速定量测定溶酶体和核仁中的 Cys。

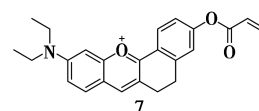


图 7 探针 7 的结构^[24]

Fig.7 Structure of probe 7^[24]

同年, Qi 等^[25] 设计并合成了与吡啶菁染料结构类似的水溶性荧光探针 8(图 8)。该探针分子具有微弱荧光响应, 在 HEPES(1% DMF, pH 7.4) 缓冲溶液中, 探针 8 与 Cys 作用后产生明显荧光增强, 且荧光强度与 Cys 浓度呈线性关系, 因

此该探针能应用于水相中 Cys 的浓度测定,检出限为 1.4×10^{-8} mol/L。机理研究表明,探针 8 与 Cys 发生芳香亲核取代-重排反应,生成的产物具有强的荧光发射。此外,探针 8 良好的水溶性使其具有优秀的生物相容性以及细胞渗透性。细胞成像实验表明探针 8 能特异性的对 Cys 进行检测。小鼠生物荧光成像表明探针 8 主要由肝脏和小肠代谢,且代谢周期约为 100 min,这表示该探针具有较好的生物安全性,在监测体内半胱氨酸分布方面具有广阔的应用前景。

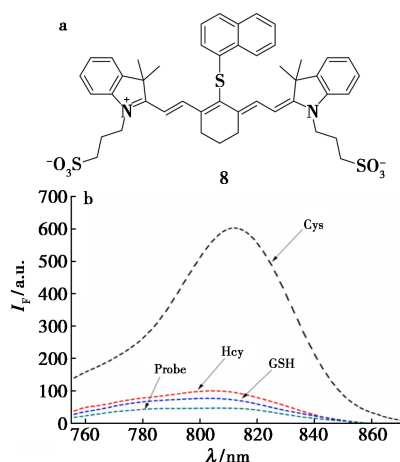


图 8 探针 8 的结构(a)和对 Cys、Hcy、GSH 的荧光响应(b)^[25]

Fig.8 Structure (a) and fluorescence response to Cys, Hcy and GSH (b) of probe 8^[25]

同年, Hou 等^[26]通过在 1,8-萘酰亚胺荧光团上连接 2-二氰基亚甲基-3-氰基-4,5,5-三甲基-2,5-二氢呋喃片段来提高其水溶性,得到了探针 9

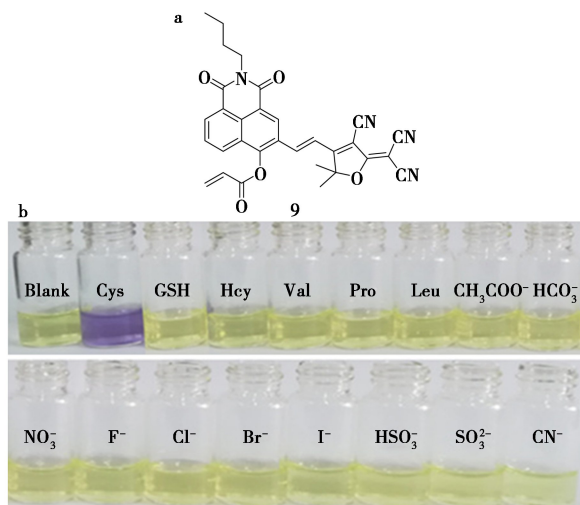


图 9 探针 9 的结构(a)和测试样品的颜色(b)^[26]

Fig.9 Structure (a) of probe 9 and the color of test sample (b)^[26]

(图 9)。在 PBS Buffer(1% DMSO, pH 7.4) 溶液中,该探针对 Cys 具有明显的荧光响应,且溶液由黄色变为蓝紫色,因此该探针可以用于 Cys 的特异性可视化识别。在 HeLa 细胞以及斑马鱼中的荧光成像结果表明探针 9 能够对内源性以及外源性 Cys 进行荧光成像。

2024 年, An 等^[27]将氯代四氢吡啶盐和氧杂蒽荧光团相连,合成了近红外荧光探针 10(图 10)。氯代四氢吡啶盐片段不仅能提高探针水溶性,其中的氯原子也可作为 Cys 的识别基团。该探针在 DMSO 和 PBS 物质的量比为 1:1 (pH 7.4) 的溶液中与 Cys 仅作用 6 min,就能对其进行特异性识别,且不受 Hcy 和 GSH 的干扰。探针与 Cys 作用后在 525 nm 处有最大吸收且斯托克斯位移为 305 nm,使其能在近红外区对 HeLa 细胞以及小鼠肿瘤细胞中的 Cys 进行荧光成像。

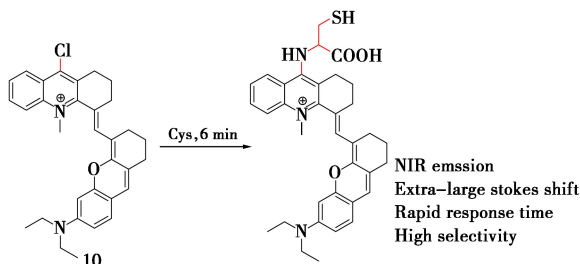


图 10 探针 10 对 Cys 的识别机理^[27]

Fig.10 Recognition mechanism of probe 10 for Cys^[27]

1.2 苯丙氨酸(Phenylalanine, Phe)

苯丙氨酸是人类和动物自身无法合成的一种必需芳香族氨基酸。苯丙氨酸还是酪氨酸、多巴胺、黑色素、肾上腺素和苯丙酮酸的前体^[28]。体内苯丙氨酸含量过高会导致中枢神经系统损伤以及肝损伤,也会导致苯丙酮尿症^[29]。因此苯丙氨酸的分析与监测也十分重要。

2020 年, Shan 等^[30]将水溶性的盐酸巴马汀用葫芦[7]脲大环分子 1:1 包裹形成了水溶性包合物超分子荧光探针 11(图 11)。探针 11 在水中显示出一定强度的荧光且仅对常见的 20 种氨基酸中的苯丙氨酸具有特异性荧光响应,即只有加入苯丙氨酸后,探针的荧光才会显著淬灭。探针 11 对苯丙氨酸的荧光响应强度与苯丙氨酸浓度($0 \sim 2 \times 10^{-5}$ mol/L)呈线性关系,这表明探针 11 可以用于苯丙氨酸的浓度测定。

1.3 天冬氨酸(Aspartic acid, Asp)

天冬氨酸是谷氨酸和甘氨酸的前体^[31],也是中枢神经系统中一种主要的兴奋性神经递质,过

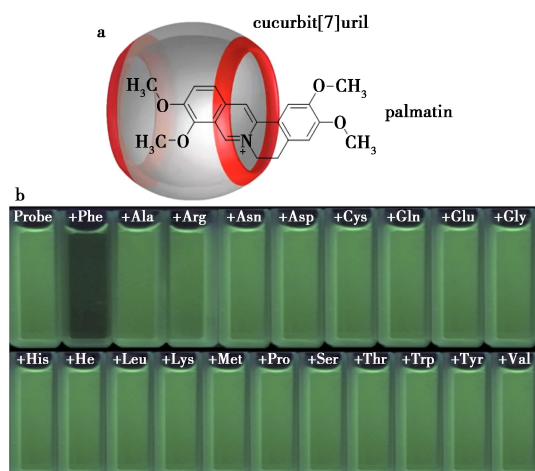


图 11 探针 11 的结构(a)和紫外下(365 nm)

探针 11 对 20 种氨基酸的荧光照片(b)^[30]

Fig.11 Structure of probe 11 (a) and fluorescence photos of probe 11 to 20 amino acids under UV light (365 nm) (b)^[30]

量的天冬氨酸可导致中风、癫痫等疾病。因此天冬氨酸的分析和检测对此类疾病的研究具有重要意义^[32]。

2019 年, Guria 等^[33]对硼二吡咯荧光团(BODIPY)进行结构修饰得到探针 12(图 12)。在该探针的 pH 6.5 的水溶液(含 3% DMSO)中荧光微弱,当加入 Asp 或 Glu, 450 nm 波长激发后,在 527 nm 产生强烈的荧光增强,且溶液颜色从粉红色变为无色,这可以用来可视化识别 Asp 和 Glu。探针 12 对 Asp 和 Glu 的荧光响应强度与氨基酸浓度均呈线性关系,且检出限分别为 1×10^{-6} 和 5×10^{-6} mol/L。另外,探针 12 具有良好的生物渗透性,可对 HeLa、MDA-MB-468、A549 和

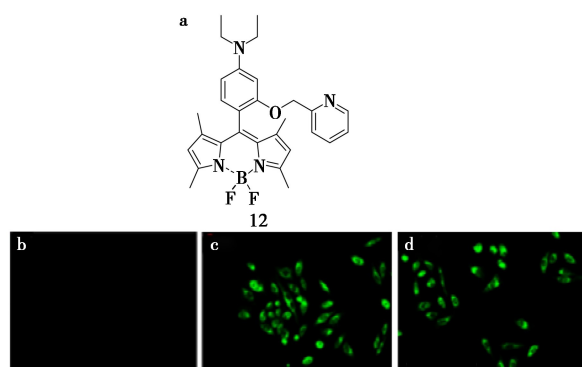


图 12 探针 12 的结构(a)及探针 12(b)、

探针 12+Asp(c)和探针 12+Glu(d)的荧光成像^[33]

Fig.12 Structure (a) of probe 12 and fluorescence imaging of probe 12 (b), probe 12+Asp (c) and probe 12+Glu (d)^[33]

HEK 293T 细胞中的 Asp 和 Glu 进行荧光成像。

2021 年, Karami 等^[34]在浓硫酸中对葡萄糖和 3-硝基苯胺进行水热处理合成了水溶性的双发射碳点 13(图 13),并将碳点 13 用于 Asp 的检测。碳点 13 在 400 和 610 nm 处显示出固有的双发射峰, Cu^{2+} 能够与碳点 13 配合并淬灭 400 nm 处的发射峰,而对 610 nm 处发射峰没有影响。在 pH 4.0 的缓冲溶液中, Asp 能够恢复探针被 Cu^{2+} 淬灭的荧光,这表示碳点 13- Cu^{2+} 复合物可以在水中化学选择性识别 Asp。在 Asp 浓度为 $2 \times 10^{-7} \sim 1.5 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内,碳点 13- Cu^{2+} 复合物的比率荧光信号强度和 Asp 浓度成线性关系,且检出限为 1.2×10^{-7} mol/L。另外,碳点 13 能够检测血浆样品中 Asp 的浓度,且测定结果的相对标准偏差(RSD)值 $<5\%$ 。

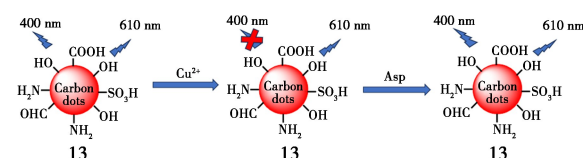


图 13 碳点 13 的结构及荧光淬灭和恢复的过程^[34]

Fig.13 Structure of carbon dot 13 and the process of fluorescence quenching and recovery^[34]

2023 年, Wei 等^[35]以柠檬酸为前驱体,经过一步溶剂热法合成了碳点 14(图 14)。碳点 14 具有一定的荧光,当 L-Asp 和 L-Lys 依次加入,样品发生荧光淬灭和荧光恢复,这种荧光“开-关-开”现象,这表明碳点 14 可以化学选择性检测 L-Asp 和 L-Lys。碳点 14 不仅能够用于人尿和小鼠血清样品中 L-Lys 的浓度测定,还可用于细胞内 L-Lys 的荧光成像。此外,碳点 14 还可以制作成试纸并借助智能手机平台将反应后试纸的颜色信号转变为对应的 L-Lys 浓度。

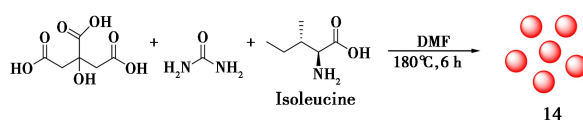


图 14 碳点 14 的合成^[35]

Fig.14 Synthesis of carbon dot 14^[35]

1.4 精氨酸(Arginine, Arg)

精氨酸被认为是人类非或半必需氨基酸,其广泛参与多种生理过程,例如体内一氧化氮和多胺的合成、以及作为 mTOR 酶的激活剂等。此外,精氨酸还是癌变过程中的信号代谢物、表观遗传调节剂和治疗靶点^[36]。因此,精氨酸的

化学选择性识别对癌症的发现和具有积极作用。

2023 年,Chen 等^[37]将难溶于水的 4-(4-二甲氨基苯基)喹啉基团同样也用葫芦[7]脲大环分子 1:1 包裹形成了另一水溶性包合物超分子荧光探针 15(图 15)。加入精氨酸后探针荧光淬灭并在紫外灯下产生从蓝色到黄色的颜色变化。此外,探针溶液中加入苯丙氨酸、组氨酸和色氨酸也会产生不同颜色变化,因此可应用该探针将这 4 种氨基酸进行可视化分子识别。另外,通过对样品颜色的图像分析,探针还能够将这 4 种氨基酸混合样品中各氨基酸的比例进行定量。

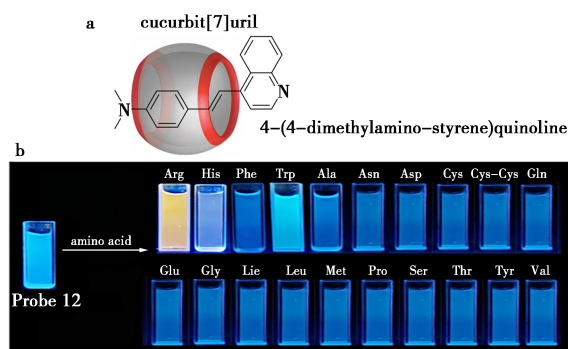


图 15 探针 15 的结构(a)和紫外下(365 nm)

探针 15 对 20 种氨基酸的荧光照片(b)^[37]

Fig.15 Structure (a) of probe 15 and fluorescent photos of the mixtures of probe 15 and 20 amino acids under UV light (365 nm) (b)^[37]

2023 年,Wei 等^[38]设计并合成氮掺杂碳点(N-CDs)探针 16(图 16)。探针 16 的水溶液中加入肉桂醛后发生荧光淬灭,随后加入 L-Lys 或 L-Arg 后荧光恢复且荧光强度与氨基酸浓度呈线性关系,且对 L-Lys 和 L-Arg 的检出限分别为

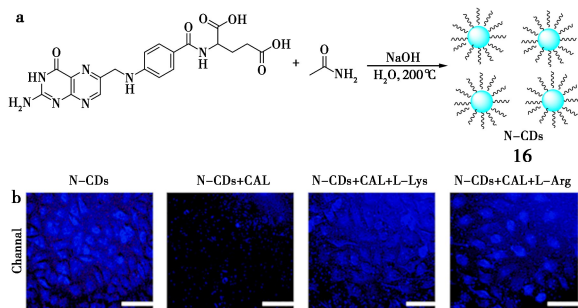


图 16 碳点 16 的合成(a)和探针 16 对 HeLa 细胞

中外源性 L-Lys 和 L-Arg 的荧光成像(b)^[38]

Fig.16 Synthesis (a) of carbon dot 16 and fluorescence imaging of carbon dot 16 for exogenous L-Lys and L-Arg in HeLa cells (b)^[38]

1.8×10^{-8} 和 1.6×10^{-8} mol/L。这种荧光“开-关-开”的性质可以用来识别 L-Lys 和 L-Arg。作者还利用该探针实现了人尿和牛血清白蛋白样品中 L-Lys 的浓度测定,并在 HeLa 细胞中对外源性 L-Lys 和 L-Arg 进行了荧光成像。

1.5 谷氨酸(Glutamic acid, Glu)

谷氨酸是大脑的主要神经递质,谷氨酸的细胞平衡对大脑的正常功能至关重要。谷氨酸的清除中断会导致神经元过度刺激和兴奋性毒性,最终导致神经系统疾病^[39]。因此,生物体内谷氨酸的化学选择性识别有利于对由谷氨酸水平异常引起的神经系统疾病的研究。

2022 年,Yuan 等^[40]以邻苯二胺和草酸为原料,一步水热合成了水溶性双发射碳点 17(图 17)。碳点 17 在 390 nm 激发后在 453 和 560 nm 处具有两个发射峰。当 L-Glu 加入后,碳点 17 在 560 nm 产生荧光淬灭,而对 453 nm 荧光无影响。在 L-Glu 浓度分别为 $0 \sim 2 \times 10^{-4}$ 和 $2 \sim 4 \times 10^{-4}$ mol/L 范围内,探针对 L-Glu 的荧光响应强度与浓度呈线性关系,且检出限为 8.5×10^{-8} mol/L。碳点 17 能够用于胎牛血清样品中 L-Glu 浓度的检测,且 RDS<5%,表明碳点 17 具有生物适用性。

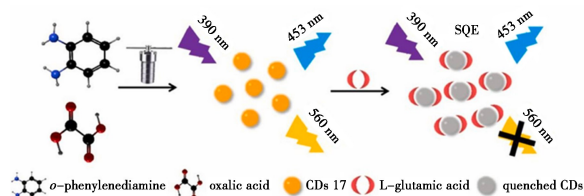


图 17 碳点 17 的合成及其对 L-Glu 的荧光识别^[40]

Fig.17 Synthesis and fluorescent recognition for L-Glu of carbon dot 17^[40]

2023 年,Han 等^[41]以柠檬酸和尿素一步水热合成了氮掺杂石墨烯量子点 18(图 18)。碳点 18 具有优异的水溶性,中性水溶液在中 345 nm 波长激发下产生强的蓝色荧光,加入 L-Glu 和 L-Asp 后通过静电吸附作用导致荧光淬灭,从而实现了对 L-Glu 和 L-Asp 的识别。细胞实验表明碳点 18 具有低的细胞毒性和高的生物相容性。在 L-Glu 和 L-Asp 浓度为 $0 \sim 200 \mu\text{g/mL}$ 范围内,碳点 18 的荧光强度与氨基酸浓度呈线性关系,可用于氨基酸的浓度测定。碳点 18 对鸡汤中 L-Glu 和 L-Asp 浓度的检测结果与仪器分析结果具有较小偏差,表示探针可用于实际样品中 L-Glu 和 L-Asp 的检测。

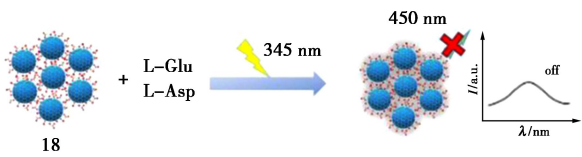


图 18 碳点 18 对 L-Glu 和 L-Asp 的荧光识别^[41]
Fig.18 Fluorescence recognition of carbon dot 18 for L-Glu and L-Asp^[41]

根据氨基酸的种类分类,总结了上述 18 种氨基酸化学选择性识别荧光探针的最大发射波长、检出限和线性范围数据,具体如表 1 所示。

表 1 氨基酸化学选择性识别探针总结^注

Tab.1 Summary of amino acid chemoselective recognition probes

氨基酸种类	探针编号	最大发射波长/nm	检出限/(mol·L ⁻¹)	线性范围/(mol·L ⁻¹)
Cys	1	674	9.6×10^{-7}	$0 \sim 1 \times 10^{-5}$
	2	525	6.7×10^{-8}	$1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-5}$
	3	607	1.2×10^{-7}	$0 \sim 8 \times 10^{-6}$
	4	720	2×10^{-7}	$0 \sim 7 \times 10^{-6}$
	5	540/605	3.4×10^{-8}	$0 \sim 1.8 \times 10^{-5}$
	6	510	1.7×10^{-5}	$0 \sim 1 \times 10^{-3}$
	7	620	2.4×10^{-7}	$0 \sim 1 \times 10^{-4}$
	8	820	1.4×10^{-8}	$6 \times 10^{-5} \sim 1.3 \times 10^{-4}$
	9	665	9.3×10^{-8}	$0 \sim 7 \times 10^{-6}$
	10	830	5×10^{-7}	$1 \times 10^{-5} \sim 6 \times 10^{-5}$
Phe	11	500	—	$0 \sim 2 \times 10^{-5}$
Asp	12	527	1×10^{-6}	$0 \sim 1 \times 10^{-5}$
	13	400	1.2×10^{-7}	$2 \times 10^{-7} \sim 1.5 \times 10^{-5}$
	14	630	8×10^{-2}	$1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4}$
Arg	15	—	—	$1 \times 10^{-5} \sim 3 \times 10^{-4}$
	16	465	1.6×10^{-8}	$1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$
Glu	17	453/560	8.5×10^{-8}	$0 \sim 2 \times 10^{-4}$ $2 \sim 4 \times 10^{-4}$
	18	345	1.5×10^{-5}	$0 \sim 1.4 \times 10^{-3}$

注:“—”为文章中未给出数据。

2 氨基酸的对映选择性荧光识别与分析

2.1 赖氨酸(Lysine, Lys)

赖氨酸是一种人体必需的氨基酸,L-赖氨酸不仅参与脂肪酸代谢和矿物质营养素摄取等过程,还在中枢神经系统中发挥着重要作用^[2]。D-赖氨酸已被用于合成黄体生成素-释放激素类似物,或以聚赖氨酸的形式作为药物载体^[3]。因此,赖氨酸的对映选择性识别与分析具有重要意义。

2019 年,Du 等^[42]使用聚(乙二醇)甲基醚嵌段聚(L-丙交酯)制备胶束包封(S)-19 的水溶性探针 ML-(S)-19(图 19),探针 ML-(S)-19 能够在

水溶液中对氨基酸进行对映选择性检测。探针 ML-(S)-19 在碳酸盐缓冲溶液中(pH 10.1)仅对赖氨酸具有强的荧光增强,且对其还显示出明显的对映选择性荧光响应,其对映选择性荧光增强比($ef = \Delta I_D / \Delta I_L$)为 6.6。结果表明,探针 ML-(S)-19 在水相中对赖氨酸同时具有化学选择性和对映选择性的识别能力。

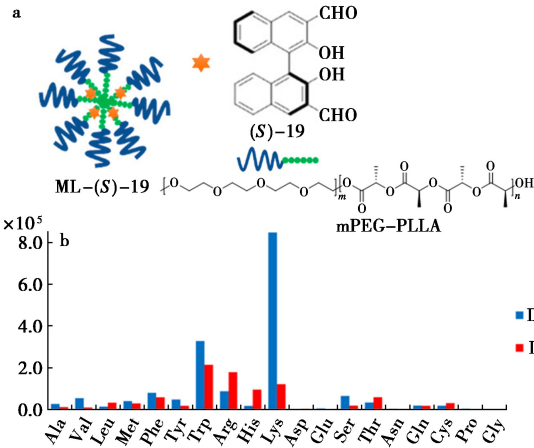


图 19 探针 ML-(S)-19 的结构(a)和对 19 种手性氨基酸的荧光响应(b)^[42]

Fig.19 Structure (a) and fluorescence response to 19 chiral amino acids of probe ML-(S)-19 (b)^[42]

2.2 精氨酸(Arginine, Arg)

精氨酸是人体半必需的氨基酸,L-精氨酸参与宿主免疫反应、尿素循环和一氧化氮的产生等生理过程^[43]。D-精氨酸具有中枢兴奋作用,还能够诱导苯巴比妥引起的睡眠时间延长^[44]。因此,Arg 的对映选择性分析对手性精氨酸参与的生理活动的研究具有积极的作用

2020 年,Zhao 等^[45]通过引入水溶性罗丹明染料设计并合成了新型的水溶性近红外探针(R)-20(图 20)。在 HEPES(1% DMSO, pH 7.4)缓冲溶液及 Zn²⁺存在的条件下,探针(R)-20 对 19 种常见氨基酸中的 14 种手性氨基酸均呈现出对映选择性荧光增强,且对 Arg 和苏氨酸(Thr)具有极高的对映选择性识别能力,其 ef 值分别为 77.7(精氨酸)和 162.6(苏氨酸)。此外,该探针与甲硫氨酸(Met)的对映异构体对作用后,分别显示不同的颜色,因此可通过肉眼直接鉴别 Met 的构型。

2020 年,Zhao 等^[46]通过引入磺酸钠片段合成了水溶性探针(R)-21(图 21)。(R)-21 在 pH 7.4 的 HEPES 缓冲溶液中对除脯氨酸外的 17 种

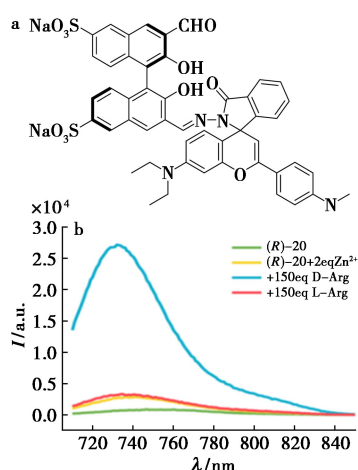


图 20 探针 (R)-20 的结构 (a) 和对 Arg 的荧光响应 (b) [45]

Fig.20 Structure (a) and fluorescent response to Arg (b) of probe (R)-20 [45]

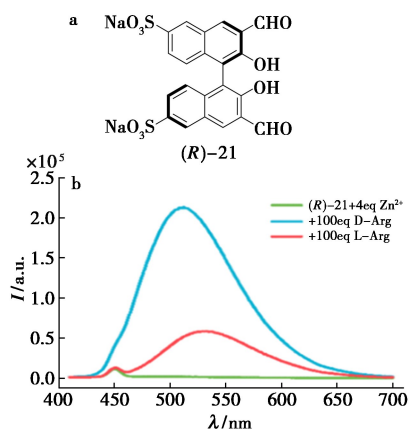


图 21 探针 (R)-21 的结构 (a) 和对 Arg 的荧光响应 (b) [46]

Fig.21 Structure (a) and fluorescent response to Arg (b) of probe (R)-21 [46]

手性氨基酸均能产生明显的荧光响应,其中对组氨酸(His)、天冬酰胺(Asn)和Arg还呈现出对映选择性荧光增强,对这3种氨基酸的对映选择性荧光增强比分别为35.8、35.8和4.4。

2022年,Jafar等[47]将固有手性碳点(BCDs)和巯基丙酸覆盖的CdTe量子点(MPA-QDs)混合得到纳米比率探针22(图22),并将其用于Arg和His的对映选择性检测。探针22的水溶液中加入L-和D-Arg后荧光由绿色分别变为砖红色和黄绿色,加入L-和D-His后分别出现荧光由绿色变为砖红色和荧光淬灭的现象,这种荧光颜色的不同可实现氨基酸的可视化对映选择性识别。另外,探针的荧光响应强度分别与Arg和His的对映体组成呈线性关系,且荧光分别从绿色逐渐变

为橙黄色和砖红色,可以使用RGB颜色分析方法进行Arg和His对映体组成的快速分析。

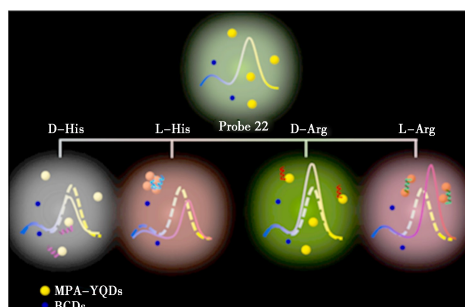


图 22 碳点 22 溶液中加入 His、Arg 后的荧光颜色变化 [47]

Fig.22 Fluorescence color change of carbon dot 22 solution after adding His and Arg [47]

2023年,Guo等[48]在联萘酚(BINOL)骨架上引入水溶性罗丹明染料设计并合成了近红外探针(S)-23(图23)。作者利用探针(R)-23在La³⁺存在的HEPES缓冲溶液中(2% MeCN, pH 7.4)对18种手性氨基酸进行了荧光分析,发现当与L-Arg作用后,690 nm波长激发时,在764 nm呈现显著的荧光增强,而与D-Arg和其他L-和D-氨基酸作用后均未显示荧光的显著变化。探针(S)-23对Arg的ef值为19.3。这表明探针(S)-23对Arg同时具有化学选择性和对映选择性识别能力。此外,当L-和D-Arg加入到探针(S)-23+La³⁺的混合液中时,溶液分别变为墨绿色和黄色,因此该探针也可被用于Arg的可视化手性识别。

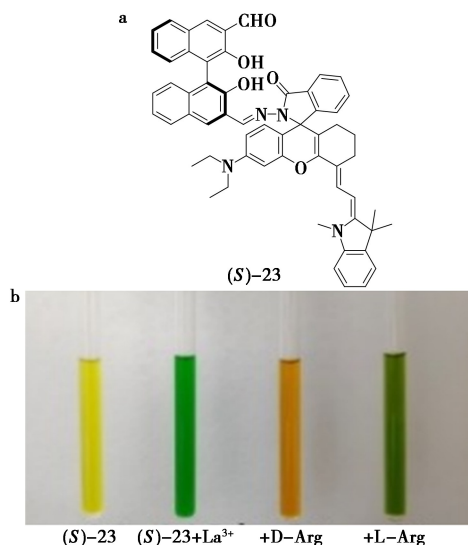


图 23 探针 (S)-23 的结构 (a) 和对 Arg 的可视化识别 (b) [48]

Fig.23 Structure (a) and visual recognition to Arg (b) of probe (S)-23 [48]

2.3 谷氨酸 (Glutamic acid, Glu)

L-Glu 是神经系统中的一种神经递质,控制大脑的认知过程,也是柠檬酸循环的必需化合物,D-Glu 的生物功能虽少有报道,但其光学纯的物质常被用作不对称合成的手性前体和手性催化剂配体^[49,50]。因此,Glu 的手性识别与分析也备受关注。

2019 年,Iqbal 等^[51]设计并合成了四溴取代的 3,3'-二醛基 BINOL 探针 (*R*)-24 (图 24)。探针 (*R*)-24 在 HEPES (1% DMSO, pH 7.4) 缓冲溶液中能够对 19 种手性氨基酸中的 7 种氨基酸进行对映选择性荧光识别。他们尝试将探针 (*R*)-24 与色氨酸 TBA 盐缩合制备了探针 (*R*)-25,并发现探针 (*R*)-25 能够在 $\lambda = 300$ nm 激发时,在 $\lambda = 350$ nm 和 $\lambda = 500$ nm 两个波长下对氨基酸表现出明显不同的荧光响应。在短波长下非对映选择性荧光响应可以测定 Glu 浓度,而长波长的高对映选择性响应可以测定 Glu 的对映体组成,从而实现了氨基酸浓度和对映体组成的同时测定。

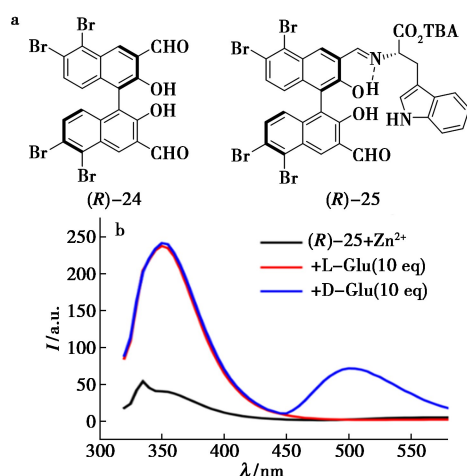


图 24 探针 (*R*)-24 和 (*R*)-25 的结构 (a) 及 (*R*)-25 对 Glu 的荧光响应 (b)^[51]

Fig.24 Structures (a) of probes (*R*)-24 and (*R*)-25 and fluorescence response (b) of probe (*R*)-25 to Glu^[51]

2020 年,Zhao 等^[52]设计并合成了吡哆醛-5'-磷酸和手性 1,2-二氨基环己烷修饰的 BODIPY 类探针 26 (图 25)。在纯水中,探针 26 仅对 12 种手性氨基酸中的 Glu 具有明显的荧光增强,且具有较好的对映选择性。探针 26 与 D-Glu 仅作用 30 min 就呈现出强的荧光响应,且荧光强度与 D-Glu 浓度呈线性关系,可以用于 D-Glu 的浓度测定。此外,探针 26 还可以用于细胞中 D-Glu 的荧光成

像,但可能因为其对 Glu 的对映选择性较弱,作者并未进行细胞中 L-Glu 的对比成像研究。

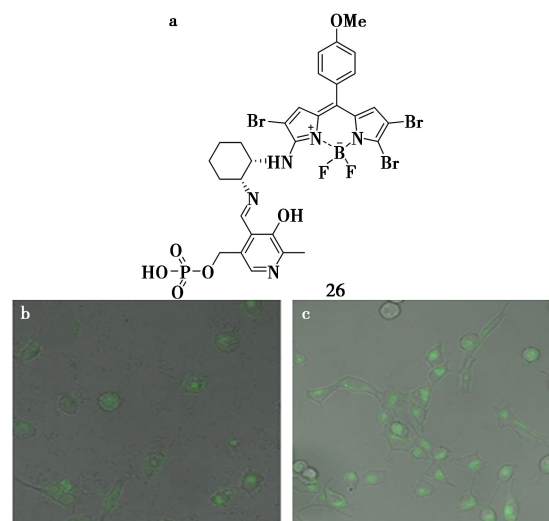


图 25 探针 26 的结构 (a) 及探针 26 (b) 和探针 26+D-Glu (c) 荧光成像^[52]

Fig.25 Structure (a) of probe 26 and fluorescence imaging of probe 26 (b) and probe 26+D-Glu (c)^[52]

2.4 色氨酸 (Tryptophan, Trp)

色氨酸是人体必需氨基酸之一在生物的生命活动中具有重要作用。L-色氨酸是血清素、褪黑素和烟酸的合成前体,而 D-色氨酸可以作为免疫制剂的重要中间体,在医药工业中广泛应用^[4]。因此,色氨酸的对映选择性检测具有重要意义。

2020 年,Du 等^[53]设计并合成一系列 BINOL 手性单醛衍生物探针 (*S*)-27a~27d (图 26),将探针用聚乙二醇-L-聚乳酸 (PEG-PLLA) 包裹使其转变为水溶性胶束。在 Zn^{2+} 存在下的 CBS 缓冲溶液中,4 个探针均对 19 种常见手性氨基酸中的 Trp 具有强烈的荧光响应且对 L-Trp 的荧光响应均高于 D-Trp。这表示 4 个探针均对 Trp 同时具有化学选择性和对映选择性识别能力。探针 (*S*)-27c 对 L-Trp 和 D-Trp 的检出限分别为 5.68×10^{-6} 和 2.6×10^{-6} mol/L,这表示探针 (*S*)-27c 具有检测生物体内色氨酸浓度的潜力。

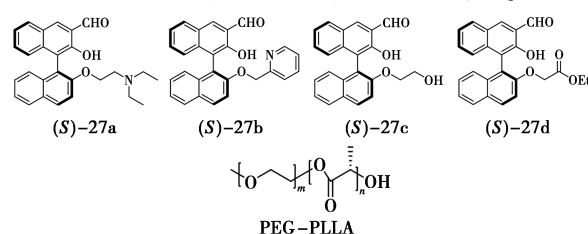


图 26 探针 (*S*)-27a~27d 的结构^[53]

Fig.26 Structures of probes (*S*)-27a~27d^[53]

2020 年, Feizi 等^[54] 将含有手性中心聚合物与聚苯乙烯-共马来酸酐聚合得到优异水溶性的聚量子点 28(图 27)。在纯水中, 探针 28 加入 L-Trp 和 D-Trp 后会产生不同程度的荧光淬灭, 这表示探针 28 对 Trp 具有对映选择性检测能力。在 L-Trp 和 D-Trp 浓度在 $5 \sim 40 \times 10^{-3}$ mol/L 范围内, 探针 28 对 L-Trp 和 D-Trp 的圆二色谱信号强度与 Trp 的浓度呈线性关系, 且检出限为 8.8×10^{-4} mol/L。

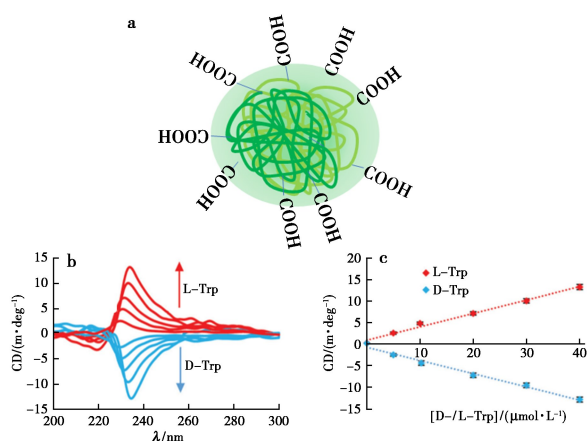


图 27 探针 28 的结构(a)和对 Trp 的圆二色谱图(b,c)^[54]

Fig.27 Structure (a) and circular dichroism to Trp of probe 28 (b,c)^[54]

2023 年, Sun 等^[55] 通过在 BINOL 骨架上引入磺酸钠片段, 设计并合成了探针 (S)-29(图 28)。探针 (S)-29 能够在纯水中对氨基酸进行对映选择性检测。在 Zn^{2+} 存在下的 BICINE 缓冲溶液中(pH 8.8), 探针 (S)-29 对 19 种常见氨基酸

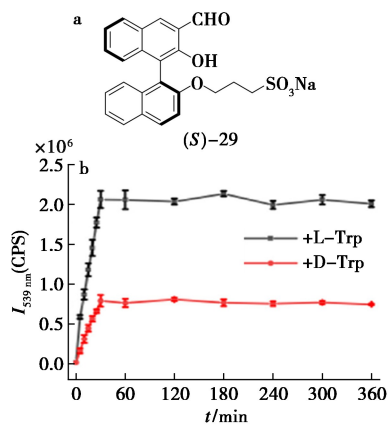


图 28 探针 (S)-29 的结构(a)和与色氨酸荧光强度与作用时间关系(b)^[55]

Fig.28 Structure (a) and fluorescence intensity of Trp versus reaction time (b) of probe (S)-29^[55]

中的 13 种手性氨基酸具有一定的对映选择性检测能力, 其中探针 (S)-29 与 Trp 作用 0.5 h 就能达到强的荧光响应, 且在后续 5.5 h 中保持稳定。该探针对于 Trp 优秀的对映选择性、快速荧光响应及荧光稳定性使其在 Trp 的手性分析中具有极大的应用潜力。

2023 年, Li 等^[56] 通过一步水热法得到水溶性荧光碳点 30, 再经过 Fe^{3+} 修饰得到荧光淬灭的水溶性荧光探针 31(图 29)。探针 31 的水溶液中加入 L-Trp 后荧光恢复且发射峰蓝移, 荧光强度与 L-Trp 的浓度呈线性关系, 检出限为 3.98×10^{-6} mol/L, 而加入 D-Trp 后探针荧光不变。表明该探针可应用于 Trp 的手性识别及 L-Trp 浓度的定量测定。且当 L-Trp 的对映体过量 (e.e. 值) 在 66.61%~90.97% 时, 探针的荧光响应强度与 e.e. 值也呈线性关系, 因此该探针也能在上述范围内测定 Trp 的光学组成。

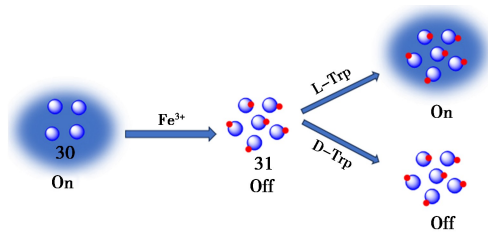


图 29 碳点 31 的荧光识别示意图^[56]

Fig.29 Fluorescence recognition diagram of carbon dot 31^[56]

根据氨基酸的种类分类, 总结了上述 12 种氨基酸对映选择性识别荧光探针的最大发射波长和对映选择性数据, 具体如表 2 所示。

表 2 氨基酸对映选择性识别探针总结^注

Tab.2 Summary of amino acid enantioselective recognition probes

氨基酸种类	探针编号	最大发射波长/nm	对映选择性 $ef = \Delta I_D / \Delta I_L$ 值
Lys	19	528	6.6
	20	736	77.7
	21	505	4.4
	22	—	—
Arg	23	764	19.3
	24	503	30.3
	25	500	244.5
Glu	26	562	2.0
	27	545	1.65
	28	—	—
	29	539	2.98
Trp	31	420~450 ¹⁾	—

注: 1) 为最大发射波长随浓度变化; “—” 为文章中未给出数据。

3 总结与展望

基于以上综述可知,应用于氨基酸分子识别的水溶性荧光探针的研究工作主要集中在两个方面,一是探针分子的亲水性结构改造,二是探针对氨基酸分子识别的应用范围拓展。在亲水性分子结构改造方面,主要有以下 3 种策略:(1)亲水性片段的引入,包括亲水性盐如磺酸盐、季铵盐等片段,以及亲水聚合物,如聚乙二醇片段等;(2)基于分子包裹的策略提高疏水性探针分子的水溶性;(3)亲水性碳点的合成。在这 3 种策略中,亲水性片段的引入是一种最直接的分子改造方法,这种方法不改变探针分子原有的骨架结构及识别基团,研究的也是最多的。分子包裹策略往往要同时考虑被包裹的探针分子对氨基酸底物的识别活性基团要有效地裸露在外相,或者氨基酸能进入包裹分子内部,否则将影响探针在水相中氨基酸的分子识别能力。另外,应用于氨基酸对映选择性分子识别的水溶性荧光探针的构建具有更大的挑战性,原因是在分子设计中除了要考虑探针分子的亲水性及与氨基酸作用后的荧光响应变化,还同时要考虑探针分子刚性的手性结构及对其中一种构型的氨基酸的手性偏倚。以上 3 种策略中,包裹性亲水结构改造的方法往往会将探针的主体手性骨架包裹在内部,如果氨基酸是在外相与探针分子的识别基团作用,此时,探针分子对氨基酸的对映选择性识别能力将会大大降低。在水相中荧光探针对氨基酸的分子识别应用方面,目前的研究主要是对氨基酸的化学选择性识别的应用,包括溶液体系中的化学选择性识别,溶液中氨基酸浓度的定量测定,细胞中内源性 & 外源性氨基酸的成像,血浆中、食品中氨基酸的检测等。而水相中氨基酸的对映选择性识别的应用基本上都是局限于溶液体系中对氨基酸的手性的识别以及光学组成的测定,很少有细胞和生物体内氨基酸手性荧光识别的研究报道。

从本文综述的研究进展来看,提高探针分子水溶性的同时,增强探针对氨基酸的化学选择性及对映选择性荧光响应始终是最关键的问题,也是以后研究的核心问题。另外,基于实际应用的氨基酸分子识别的荧光探针构建将是该领域科学家们关注的热点。从溶液中氨基酸的分子识别到细胞及生物体内氨基酸荧光成像的应用拓展是该领域的一个重要研究方向。特别是已经有越来越多的研究发现在人体组织和体液中有少量 D-

氨基酸的存在,且其与某些疾病的发病机制有关,因此细胞及生物体内氨基酸的对映选择性分子识别及手性荧光成像将是一个值得关注的新兴研究方向。

参考文献:

- [1] PAULSEN C E, CARROLL K S. Cysteine-mediated redox signaling: Chemistry, biology, and tools for discovery [J]. *Chem. Rev.*, 2013, **113**(7): 4 633-4 679.
- [2] WU G Y. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition [J]. *Amino Acids*, 2009, **37**(1): 1-17.
- [3] WANG X, YANG L, CAO W J, et al. Efficient production of enantiopure D-Lysine from L-Lysine by a two-enzyme cascade system [J]. *Catalysts*, 2016, **6**(11): 168.
- [4] KEPERT I, FONSECA J, MULLER C, et al. D-tryptophan from probiotic bacteria influences the gut microbiome and allergic airway disease [J]. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, **139**(5): 1 525-1 535.
- [5] GU S X, WANG H F, ZHU Y Y, et al. Natural occurrence, biological functions, and analysis of D-amino acids [J]. *Pharm. Fronts*, 2020, **2**(2): e79-e87.
- [6] PAEK S M, JEONG M, JO J, et al. Recent advances in substrate-controlled asymmetric induction derived from chiral pool α -amino acids for natural product synthesis [J]. *Molecules*, 2016, **21**(7): 951.
- [7] SHAO Q, WU K, ZHUANG Z, et al. From Pd(OAc)₂ to chiral catalysts: The discovery and development of bifunctional mono-N-protected amino acid ligands for diverse C—H functionalization reactions [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2020, **53**(4): 833-851.
- [8] KUMAR A P, JIN D, LEE Y I. Recent development on spectroscopic methods for chiral analysis of enantiomeric compounds [J]. *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2009, **44**(4): 267-316.
- [9] GE R, ZHU Y Y, WANG H F, et al. Methods and application of absolute configuration assignment for chiral compounds [J]. *Chin. J. Org. Chem.*, 2022, **42**(2): 424-433.
- [10] PU L. Fluorescence of organic molecules in chiral recognition [J]. *Chem. Rev.*, 2004, **104**(3): 1 687-1 716.
- [11] BUCKINGHAM A D. Chiral discrimination in NMR spectroscopy [J]. *Q. Rev. Biophys.*, 2015, **48**(4): 421-423.
- [12] 田师思, 王利雪, 李泽龙, 等. 指纹氨基酸检测技术及其在法庭科学中的应用 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(12): 1 705-1 711.
- [13] HERRERA B T, PILICER S L, ANSLYN E V, et al. Optical analysis of reaction yield and enantiomeric excess: A new paradigm ready for prime time [J]. *J. Am. Chem.*

- Soc., 2018, **140**(33): 10 385-10 401.
- [14] PU L. Enantioselective fluorescent recognition of free amino acids: Challenges and opportunities [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, **59**(49): 21 814-21 828.
- [15] LIU X, CHANG Y T. Fluorescent probe strategy for live cell distinction [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2022, **51**(5): 1 573-1 591.
- [16] 张芮, 刘学愚, 胡云翔, 等. 3-氨基香豆素衍生的荧光探针 [J]. *化学试剂*, 2023, **45**(12): 9-17.
- [17] WEERAPANA E, WANG C, SIMON G M, et al. Quantitative reactivity profiling predicts functional cysteines in proteomes [J]. *Nature*, 2010, **468**(7 325): 790-795.
- [18] ZHANG S W, WU D D, WU J J, et al. A water-soluble near-infrared fluorescent probe for sensitive and selective detection of cysteine [J]. *Talanta*, 2019, **204**: 747-752.
- [19] WANG B J, LIU R J, FANG J G, et al. A water-soluble dual-site fluorescent probe for the rapid detection of cysteine with high sensitivity and specificity [J]. *Chem. Commun.*, 2019, **55**(78): 11 762-11 765.
- [20] TANG L J, XU D, TIAN M Y, et al. A mitochondria-targetable far-red emissive fluorescence probe for highly selective detection of cysteine with a large stokes shift [J]. *J. Lumin.*, 2019, **208**: 502-508.
- [21] LI Y L, HE X, HUANG Y B, et al. Development of a water-soluble near-infrared fluorescent probe for endogenous cysteine imaging [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2020, **226**: 117 544.
- [22] YANG X Z, WEI X R, SUN R, et al. A novel xanthylene-based effective mitochondria-targeting ratiometric cysteine probe and its bioimaging in living cells [J]. *Talanta*, 2020, **209**: 120 580.
- [23] LIU Y, WU Y X, ZHANG D L, et al. Rational design of in situ localization solid-state fluorescence probe for bioimaging of intracellular endogenous cysteine [J]. *Talanta*, 2020, **220**: 121 364.
- [24] LI H W, CHEN R F, JIANG Y H, et al. A two-photon fluorescent probe based on link-anthocyanin for detecting cysteine in nucleoli and lysosomes [J]. *Sens. Actuatur. B Chem.*, 2021, **329**: 129 159.
- [25] QI S L, ZHANG H Y, WANG X Y, et al. Development of a NIR fluorescent probe for highly selective and sensitive detection of cysteine in living cells and in vivo [J]. *Talanta*, 2021, **234**: 122 685.
- [26] HOU X F, LI Z S, LI Y Q, et al. ICT-modulated NIR water-soluble fluorescent probe with large stokes shift for selective detection of cysteine in living cells and zebrafish [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2021, **246**: 119 030.
- [27] AN S X, LIN Y F, YE T Q, et al. An extra-large stokes shift near-infrared fluorescent probe for specific detection and imaging of cysteine [J]. *Talanta*, 2024, **267**: 125 247.
- [28] DINU A, APETREI C. A review on electrochemical sensors and biosensors used in phenylalanine electroanalysis [J]. *Sensors*, 2020, **20**(9): 2 496.
- [29] RONELLI V, LONGO N. Phenylketonuria and the Brain [J]. *Mol. Genet. Metab.*, 2023, **139**(1): 107 583.
- [30] SHAN P H, KAN J L, DENG X Y, et al. A fluorescent probe based on cucurbit[7]uril for the selective recognition of phenylalanine [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2020, **233**: 118 177.
- [31] JOHNSON J L. Aspartic acid as a precursor for glutamic acid and glycine [J]. *Brain Res.*, 1974, **67**(2): 358-362.
- [32] WENG H, YAN B. A sliver ion fabricated lanthanide complex as a luminescent sensor for aspartic acid [J]. *Sens. Actuatur. B Chem.*, 2017, **253**: 1 006-1 011.
- [33] GURIA S, GHOSH A, MANNA K, et al. Rapid detection of aspartic acid and glutamic acid in water by BODIPY-based fluorescent probe: Live-cell imaging and dft studies [J]. *Dyes Pigments*, 2019, **168**: 111-122.
- [34] KARAMI S, SHAMSIPUR M, BARATI A. Intrinsic dual-emissive carbon dots for efficient ratiometric detection of Cu²⁺ and aspartic acid [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2021, **1 144**: 26-33.
- [35] WEI S S, WANG B, ZHANG H Y, et al. Portable smartphone platform based on tunable chiral fluorescent carbon dots for visual detection of L-Asp and L-Lys [J]. *Chem. Eng. J.*, 2023, **466**: 143 103.
- [36] CHEN C L, HSU S C, ANN D K, et al. Arginine signaling and cancer metabolism [J]. *Cancers*, 2021, **13**(14): 3 541.
- [37] CHEN X X, HUANG S Z, YANG R P, et al. Supramolecular fluorescent probe based on a host-guest complex for amino acids recognition and detection in aqueous solution [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2023, **302**: 123 079.
- [38] WEI S S, SHI X Y, WANG C Z, et al. Facile synthesis of nitrogen-doped carbon dots as sensitive fluorescence probes for selective recognition of cinnamaldehyde and L-Arginine/L-Lysine in living cells [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2023, **287**: 122 039.
- [39] ANDERSEN J V, MARKUSSEN K H, JAKOBSEN E, et al. Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration [J]. *Neuropharmacology*, 2021, **196**: 108 719.

- [40] YUAN L, LIU L Z, BAI Y F, et al. A novel ratiometric fluorescent probe for detection of L-Glutamic acid based on dual-emission carbon dots [J]. *Talanta*, 2022, **245**: 123 416.
- [41] HAN T T, HUANG Y, GAO T Y, et al. Fabrication of nitrogen-doped graphene quantum dots based fluorescent probe and its application for simultaneous, sensitive and selective detection of umami amino acids [J]. *Food Chem.*, 2023, **404**: 134 509.
- [42] DU G Y, PU L. Micelle-encapsulated fluorescent probe: Chemoselective and enantioselective recognition of lysine in aqueous solution [J]. *Org. Lett.*, 2019, **21**(12): 4 777-4 781.
- [43] GAMBARDELLA J, KHONDKAR W, MORELLI M B, et al. Arginine and endothelial function [J]. *Biomedicines*, 2020, **8**(8): 277.
- [44] GRISELDA C M. D-arginine action against neurotoxicity induced by glucocorticoids in the brain [J]. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2011, **35**(6): 1 353-1 362.
- [45] ZHAO F, TIAN J, WU X D, et al. A near-IR fluorescent probe for enantioselective recognition of amino acids in aqueous solution [J]. *J. Org. Chem.*, 2020, **85**(11): 7 342-7 348.
- [46] ZHAO F, WANG Y L, WU X D, et al. Sulfonation of 3, 3'-diformyl-BINOL for enantioselective fluorescent recognition of amino acids in water [J]. *Chem. Eur. J.*, 2020, **26**(32): 7 258-7 262.
- [47] JAFAR I Z, FAHIMI K N, MORAD R, et al. Toward visual chiral recognition of amino acids using a wide-range color tonality ratiometric nanoprobe [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2022, **1** 231: 340 386.
- [48] GUO H Y, YANG J Q, ZENG J, et al. Near-IR fluorescent recognition of arginine: High chemoselectivity and enantioselectivity promoted by La^{3+} [J]. *ChemPlusChem*, 2023, **88**(6): e202 300 138.
- [49] WANG X L, HUANG W F, LEI X S, et al. A facile synthesis of 1, 4-dideoxy-1, 4-imino-D-ribitol (LRB) and (-)-8 α -epi-swainsonine from D-glutamic acid [J]. *Tetrahedron*, 2011, **67**(26): 4 919-4 923.
- [50] SUBBA S, SAHA S, MANDAL S, et al. First total synthesis of aspergillolide [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2022, **106**: 154 081.
- [51] IQBAL S, YU S S, JIANG L, et al. Simultaneous determination of concentration and enantiomeric composition of amino acids in aqueous solution by using a tetrabromobiphenyl dialdehyde probe [J]. *Chem. Eur. J.*, 2019, **25**(42): 9 967-9 972.
- [52] ZHAO L, ZHOU H X, ZHOU Q H, et al. Biomimetic fluorescent probe for chiral glutamic acid in water and its application in living cell imaging [J]. *Sens. Actuat. B Chem.*, 2020, **320**: 128 383.
- [53] DU G Y, MAO Y F, ABED M A, et al. Fluorescent recognition of L- and D-Tryptophan in water by micelle probes [J]. *Mater. Chem. Front.*, 2020, **4**(8): 2 384-2 388.
- [54] FEIZI F, SHAMSIPUR M, GHOLIVAND M B, et al. Harnessing the enantiomeric recognition ability of hydrophobic polymers of intrinsic microporosity (PIM-1) toward amino acids by converting them into hydrophilic polymer dots [J]. *J. Mater. Chem. C*, 2020, **8**(39): 13 827-13 835.
- [55] SUN M X, NI C Z, ZHANG F Q, et al. Chiral amino acid recognition in water: A BINOL-based fluorescent probe [J]. *Chin. Chem. Lett.*, 2023, **34**(12): 108 345.
- [56] LI J Q, DU N, GUAN R F, et al. Construction of a chiral fluorescent probe for tryptophan enantiomers/ascorbic acid identification [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2023, **15**(19): 23 642-23 652.