

编者按: 荧光探针是以荧光物质作为指示剂,并在一定波长光的激发下使指示剂产生荧光,通过检测所产生的荧光实现对被检测物质的定性或者定量分析。近年来,荧光探针因其在生物、化学、医学和环境过程中的有效应用而受到广大科研人员的关注。

本专题收录了 4 篇荧光探针专题文章,主要涉及有机硒化合物荧光探针研究进展、新型久洛尼定类席夫碱荧光探针的合成及 Al^{3+} 的灵敏检测、香豆素席夫碱类胍荧光探针的合成及性能研究、席夫碱红色荧光探针的合成及对乙醇的识别。

有机硒化合物荧光探针研究进展

张继东^{*1,2}, 杨垚¹, 薛凯茜¹, 丁美娟¹, 夏曾润²

(1.安康学院 化学与环境学院 界面多孔材料陕西省高等学校重点实验室,陕西 安康 725000;

2.中国富硒产业研究院 农业农村部富硒产品开发与质量控制重点实验室,陕西 安康 725000)

摘要: 荧光探针不仅可以识别目标分析物,而且可以通过荧光信号变化实现定量检测。近年来,含硒有机化合物作为荧光探针已广泛用于检测各种分析物。如金属阳离子和阴离子荧光检测、细胞成像和生物活性监测等。含硒荧光探针与含 N-、O-、和 S-的荧光探针相比较具有特定优势,其具有高的反应活性,包括氧化、消除以及与亲核试剂和亲电试剂的反应等。此外,含硒的化合物表现出低的氧化还原电位,根据这一性能开发出一系列特定功能的荧光探针,综述了含硒化合物对金属离子、硫醇(RSH)、活性氧物质(ROS)荧光探针的研究进展,并对该领域的发展前景进行了展望。

关键词: 有机硒化合物;荧光探针;金属离子;硫醇;过氧化氢;次氯酸

中图分类号:O65 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2024)10-0035-09

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0105

Recent Progress in Fluorescent Probe for Organoselenium Compounds ZHANG Ji-dong^{*1,2}, YANG Yao¹, XUE Kai-xi¹, DING Mei-juan¹, XIA Zeng-run² (1. Interfacial Porous Materials Key Laboratory of Higher Education in Shaanxi Province, School of Chemistry and Environmental, Ankang University, Ankang 725000, China; 2. Key Laboratory of Se-Enriched Products Development and Quality Control of Ministry of Agriculture, Se-Enriched Products Research Institute of China, Ankang 725000, China)

Abstract: Fluorescence probe can not only identify the target analytes, but also realize quantitative detection through the change of fluorescence signal. In recent years, selenium-containing organic compounds have been used as fluorescent probes to detect various analytes. Selenium-containing organic compounds can be used for metal cation and anion fluorescence detection, cell imaging and bioactivity monitoring. Fluorescence probes containing selenium have specific advantages over fluorescence probes containing N-, O-, and S-, and have as high reactivity, including oxidation, elimination, and reactions with nucleophiles and electrophiles. In addition, selenium-containing compounds exhibit low redox potential, and a series of fluorescence probes with specific functions have been developed based on this property. The research progress of selenium-containing compounds on the fluorescence probes of metal ions, thiols (RSH) and reactive oxygen species (ROS) was reviewed, and the development prospect in this field was prospected.

Key words: organoselenium; fluorescent probe; metal ion; thiol; hydrogen peroxide; hypochlorous acid

1836 年,有机硒化合物首次被发现^[1],目前和天然产物骨架^[2-6]。自从硒代半胱氨酸在哺乳动物酶中被发现,硒的生物化学功能被逐渐关注。已开发出多种有机硒试剂用于合成重要生物分子

收稿日期:2024-02-22;网络首发日期:2024-07-22

基金项目:陕西省技术创新引导专项基金项目(2022QFY09-09);陕西省重点研发计划项目(2023YBGY-152);陕西省教育厅专项科研项目计划项目(23JK0274);安康市科学技术研究发展计划项目(AK2022-GY-02)。

作者简介:张继东(1986-),男,甘肃会宁人,博士,副教授,主要研究方向为含硒功能分子设计合成与应用、天然产物富硒成分提取分离,E-mail:zjd20111101@126.com。

引用本文:张继东,杨垚,薛凯茜,等.有机硒化合物荧光探针研究进展[J].化学试剂,2024,46(10):35-43。

迄今为止,已发现 25 种硒蛋白,如谷胱甘肽过氧化物酶、碘甲腺氨酸脱碘酶和硫氧蛋白还原酶等^[7-9]。硒元素作为人体必需的膳食元素,各种有机硒试剂因谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和脱碘酶的活性而被化学生物学研究工作所熟悉^[10-12]。饮食中硒含量缺乏会导致相关硒蛋白失活,从而导致氧化应激,使得认知能力下降,增加神经性疾病的发作。当硒与谷胱甘肽过氧化物酶的催化位点结合,可以抑制脂质体过氧化引起的铁死亡。有机硒化合物也被认为可以在中风等缺血性疾病中保护神经元^[13-15]。

荧光检测是最简单、廉价、快速、高选择性和灵敏性的检测方法之一,可以用于检测中性分子、离子、生物大分子以及用于细胞和组织中生物成像研究^[16,17]。基于以上原因,荧光检测方法在环境科学、生物和临床分析等领域被广泛关注^[18-21]。有机小分子荧光探针针对目标分析物表现出高灵敏性和易操作性。通过探针发射强度的改变分析目标分析物浓度。在过去的几十年里,人们对能够用于环境中和生物体内检测的荧光探针的开发产生广泛的兴趣和深入的研究。本文主要总结了近年来含硒有机小分子荧光探针研究进展,并对该领域的研究进行了总结和展望。

N、O 和 S 原子常被设计到有机配体中用于结合金属离子。在荧光探针领域,设计含受体配位点的分子,用于检测金属离子。Se 原子与氧和硫相似,可以螯合铁和汞。硒通常以二价形式存在,其具有两个共价键以及两个孤对电子^[22]。在硫属元素系列中,硒元素由于不同的氧化态和极化率使得其表现出软/硬供体特性^[23]。硒的软硬特性有助于识别特定的分析物,因此有机硒化合物已被开发为一类重要的荧光基团。含硒金属离子荧光探针与硫醇和 ROS/RNS 探针类似,当金属离子存在时,金属离子与富电子的硒配位,阻止了电子转移,导致荧光探针的荧光信号开启。目前报道的含硒金属离子荧光探针,是硒原子与软金属离子结合,从而实现金属离子检测。硒与金属离子加合物(Se-M)也可以完全脱离母体分子实现探针荧光“开启”模式,以恢复荧光团或发色团母体分子。

近年来,含硒的化合物作为荧光传感器成功应用于检测活性氧(ROS)、活性氮物质(RNS)和生物硫醇。含一个或多个硒原子的多种杂环化合物已经被研究过多年。许多含硒的杂环化合物是

良好的药效基团^[24-26]。化学家面临的挑战是合成含硒中心的水溶性分子探针,其中硒原子放置在一个可以修饰的地方以便于氧化还原。含硒的荧光探针可以用于检测 ROS 和 RNS,归因于硒的氧化还原特性。含硒官能团被认为是最容易氧化和富电子的官能团,在 ROS 探针中,其电子密度从硒到荧光基团的转移,可以淬灭荧光。硒被 ROS 或 RNS 氧化后,电子发生转移,产生荧光响应。与 S 原子相比较,含 Se 的化合物由于重原子效应而表现出较低的发射强度和量子产率。有机硒化合物作为荧光探针用于各种模式的识别:a. 与分析物发生反应,在分析物存在下,荧光探针的脱去含硒官能团;b. Se 原子作为配位点与金属配位。硒比硫更柔软,且容易极化。因此含硒荧光探针对于软分析物/金属/离子的选择性比硬分析物/金属/离子更有效。由于硒元素的氧化电位低,对氧化剂(过氧化氢和过氧亚硝酸盐)和活性氧敏感,因此有机硒化合物可以用作这些氧化物质的荧光探针。有机硒化合物具有高的反应活性,特别是 Se—P、Se—N 和 Se—O 键,使得含硒荧光探针适合通过各种化学反应进行荧光检测。在荧光探针发光团中,当硫原子被硒原子取代时,其探针的吸收和发射波长会增长,该性能为比率型荧光探针的设计提供了思路。近年来,一些含硒的荧光探针被开发出来,其能够选择性的检测各种生物活性分子、金属离子、硫醇、羧酸阴离子、活性氧(Reactive oxygen species, ROS)和活性氮(RNS)。这些荧光团包括罗丹明、花菁、香豆素、萘酰亚胺、苯并咪唑、硼-二吡咯亚甲基等^[27-29]。这类荧光探针的检测机理包括光诱导电子转移(Photo-induced electron transfer, PET),分子内电荷转移(Intramolecular charge transfer, ICT)等。本文期望进一步加深人们对含硒荧光探针设计原理的认识,为开发新型的含硒荧光探针提供帮助。

1 检测金属离子荧光探针

有机硒荧光探针具有重要的生物学意义,其性能优于含 N、O 和 S 的荧光探针,主要因为 Se 元素的独特性能。有机硒荧光探针在反应过程中表现出高的反应活性,如氧化、消除、亲核反应和亲电反应。此外,有机硒荧光探针表现出较低的氧化还原电位,该性能对荧光探针的设计非常重要。研究发现有机硒荧光探针可以识别金属阳离子。常通过脱硒反应或 NSe_2O_2 、 Se_2N 螯合基团实

现 Hg^{2+} 检测。然而,有机硒荧光探针能够检测金属离子的种类仍然非常有限。

2009 年, Tang 等^[30] 报道了一种基于脱硒反应的有机硒荧光探针 1 (图 1), 其在水溶液中可以检测 Hg^{2+} 。该探针的检测机理为脱硒反应, 探针 1 表现出无荧光发射, 其与 Hg^{2+} 反应后, 形成荧光素和 HgSe 。进一步研究发现, 探针在 RAW 264.7 细胞中对 Hg^{2+} 表现出高选择性和灵敏性。2010 年, Chen 等^[31] 报道了一种基于硒内酯结构的罗丹明 B 衍生物荧光探针 2, 其对无机汞和甲基汞具有高选择性和灵敏性, 对 Hg^{2+} 的检测限为 20 nmol/L。该研究工作稍早之前, Shi 等^[32] 报道了相同的探针结构用于 Hg^{2+} 和 Ag^{+} 检测。2011 年, Samb 等^[33] 报道了一种简单、高效的汞离子荧光探针 3。该探针结构中, 与推拉生色团相连的 $\text{Se}=\text{P}$ 键是汞离子的选择性反应基团。探针对 Hg^{2+} 的灵敏度和选择性高于其他金属离子和生物分析物, 其检测限为 0.9 nmol/L。同年, Lu 等^[34] 报道了一种基于 NSe_2O_2 识别基团的半花菁水溶性 Hg^{2+} 荧光探针 4, 其检测机理为分子内电荷转移 (ICT) 机制。当溶液体系加入 Hg^{2+} 后, 可以通过肉眼观察到溶液颜色从红色转变为无色, 从而实现了对 Hg^{2+} 离子的“肉眼”可视化检测和荧光检测。

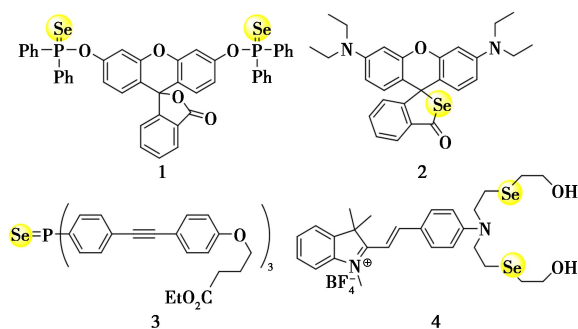


图 1 探针 1~4 的结构

Fig.1 Structures of probe 1~4

氟硼吡咯结构因较高的摩尔消光系数、高荧光量子产率和对外界环境的低敏感性而被广泛用作荧光探针的荧光基团。2013 年, Wu 等^[35] 报道了一种类似结构的 NSe_2 型荧光探针 5 (图 2), NSe_2 官能团作为金属离子的螯合基团, 其可以用于 Cu^{2+} 选择性识别。探针本身在溶液中表现出微弱的荧光, 其原因为 N 原子到氟硼吡咯结构, 发生 PET 过程引起的荧光淬灭。当 Cu^{2+} 离子结合到荧光探针导致荧光的增强。可以用于检测活

细胞中的 Cu^{2+} 。到目前为止, 能够用于区分 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的荧光探针比较少。2014 年, Murale 等^[36] 报道了一种基于氟硼吡咯结构荧光探针 6, 结构包含 ONSe_2 的口袋状识别基团, 其可以通过 H_2O_2 参与的芬顿化学区分 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 。该探针通过荧光增强模式检测 Fe^{3+} , 其检测限为 9.63×10^{-5} mol/L。该检测体系可以通过芬顿反应有效区分 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 。该研究作为检测铁离子相关疾病提供依据。

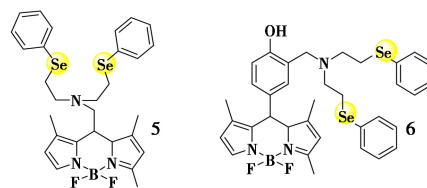


图 2 探针 5, 6 的结构

Fig.2 Structures of probe 5, 6

近年来, 含硒杂环结构也用于金属离子荧光探针的设计。2014 年, Buccella 等^[37] 报道了一种基于呋喃结构的红移比率型硒唑荧光探针 7 (图 3), 其能够应用于生物体系中 Mg^{2+} 的检测。该研究表明 Se 元素的重原子效应使得探针的荧光基团的荧光发射增强, 也增强对 Mg^{2+} 响应的能力。另外, 当 Se 原子代替 O 原子时, 发生 70 nm 的红移。探针中硒元素的存在导致发射波长的大位移和斯托克斯位移的增加。该研究作为设计能够产生红移的比率型荧光探针的设计提供依据。

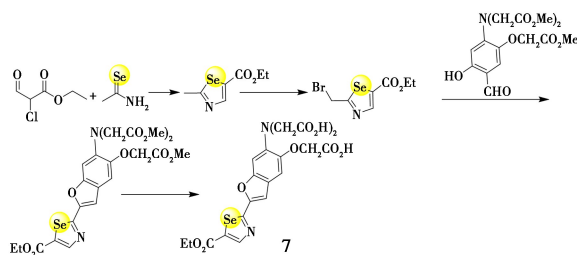


图 3 探针 7 的结构和合成路线图

Fig.3 Structure and the synthetic route of the probe 7

2 硫醇荧光探针

硫醇与生命体内许多生物代谢过程有关, 包括氧化还原、甲基转移等。细胞内硫醇如谷胱甘肽 (GSH)、半胱氨酸 (Cys) 和同型半胱氨酸 (Hcy) 在维持生物氧化还原平衡时起重要作用。此外, 细胞内硫醇的水平能够反映氧化应激状态, 其与许多疾病相关, 如癌症、艾滋病、阿尔兹海默症和心

血管疾病等。Cys 是一种非必需氨基酸, Cys 缺乏会引起儿童生长缓慢和肝损伤等。GSH 作为细胞内最丰富的非蛋白巯基, 在维持细胞内氧化还原平衡中扮演重要作用。血浆中高浓度的 HCy 可导致钴胺素(维生素 B12)缺乏。因此, 开发快速、灵敏和选择性地测定细胞内硫醇的检测体系对于诊断疾病具有重要意义。研究发现巯基可以使 Se—N 键裂解, 研究人员以此原理开发了一系列检测硫醇及其氧化还原状态的荧光探针。

2007 年, Tang 等^[38]报道了一种基于罗丹明结构的硫醇荧光探针 8(图 4), 其结构中包含一个 Se—N 键用于 GSH 的反应检测。该探针对 GSH 检测限为 1.4 nmol/L, 表明该探针可以定量和定性检测谷胱甘肽。该探针对于细胞中谷胱甘肽表现出高选择性和灵敏性, 其被成功应用于 HL-7702 和 HepG2 细胞中谷胱甘肽荧光成像。该研究工作的思路来源于含硒药物依布硒啉(Ebselen)作为谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的模拟物, 在生物抗氧化防御系统中起作用。2009 年, Tang 等^[39]设计合成了一种有机硒荧光探针 9 用于检测硫醇。该探针表现出高的信噪比, 高灵敏度和选择性。其设计策略为有机硒官能团取代罗丹明氨基上的 4 个氢原子, 完全阻碍了的罗丹明开环, 其检测机理为非荧光的有机硒探针在硫醇的作用下转化成罗丹明 110(Rh110)。通过共聚焦实验研究发现, 在 HL-7702 细胞和 HepG2 细胞中探针 9 可以可视化检测正常细胞和异常细胞的硫醇浓度。该研究结果可以作为一种简单可靠的荧光测量系统用于细胞内硫醇的分析。

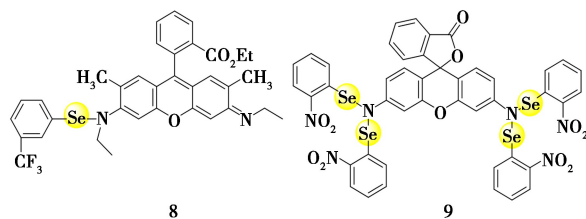


图 4 探针 8,9 的结构

Fig.4 Structures of probe 8,9

2012 年, Chen 等^[40]报道了两种含有 Se—N 键的近红外荧光探针 10、11(图 5), 可以用于检测硫醇。两种探针对含巯基的化合物均具有高的选择性和灵敏性以及较宽的 pH 范围, 其在近红外区(650~900 nm)能够产生荧光发射。此外, 探针表现出快速的响应能力和良好的线性关系, 其可以通过用于活细胞和组织中检测各种浓度的生

物硫醇。探针本身没有荧光, 其机理为供体激发光诱导电子转移(d-PET)过程。在体系中存在硫醇的情况下, 探针 11 表现出较强的荧光, 其 Se—N 键的裂解结合形成菁染料。当检测体系中存在谷胱甘肽时, 探针体系荧光增强。该探针为研究生物体系中硫醇的影响提供了一种有效工具。

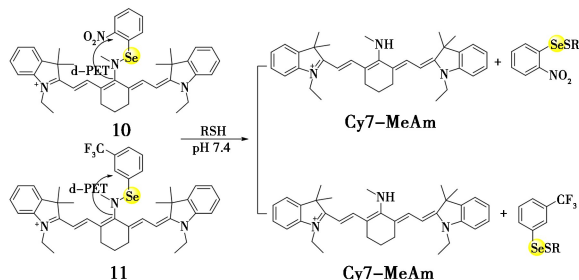


图 5 探针 10,11 的结构

Fig.5 Structures of probe 10,11

2013 年, Xu 等^[41]基于依布硒林五元环的打开(Ebselen)设计合成了一种近红外的线粒体靶向 GSH/H₂O₂ 荧光探针 12(图 6)。该探针被成功应用于实时成像监测细胞内细胞凋亡过程中的氧化还原状态。结果表明, 谷胱甘肽合成抑制剂丁胱亚磺酰亚胺(Buthionine sulfoxine, BSO)刺激后, 会使得 HepG2 和 HL7702 细胞中 H₂O₂ 水平的逐渐增加, 肿瘤细胞比正常细胞具有更好的耐受性。进一步研究发现, 探针可以应用于监测在斑马鱼创伤面的 H₂O₂ 的变化。该工作在监测氧化还原状态提高新的机遇。

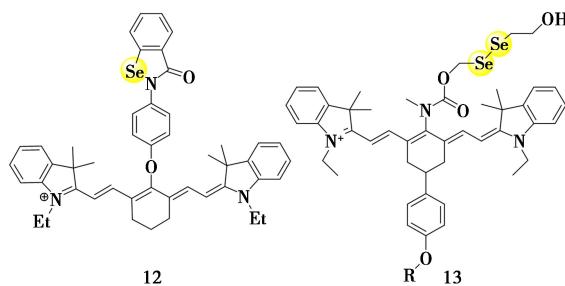


图 6 探针 12,13 的结构

Fig.6 Structures of probe 12,13

2016 年, Han 等^[42]首次报道了一种新的比例型近红外荧光探针 13, 其可以用于选择性地检测活细胞和体内的半胱氨酸硫氢化物(Cys-SSH)。该探针结构由双(2-羟乙基)二硒化物, 七甲基花菁和 d-半乳糖 3 部分组成。探针在 0~12 mmol/L 范围内通过硒-硫交换反应与 Cys-SSH 表现出良好的线性响应, 其检测限为 0.12 mmol/L。荧光成像研究结果表明探针 13 在 HepG2 细胞、HL-

7702 细胞和原代肝细胞中具有定性和定量检测能力。进一步研究发现,探针对正常 SD 大鼠和 Walker-256 肿瘤 SD 大鼠进行器官靶向试验,其主要定位于肝脏。该探针有望揭示 Cys-SSH 在生理和病理过程中的作用。

2016 年,Manjare 等^[43]报道了一种双氟硼二吡咯(BODIPY)二硒化物荧光探针 14(图 7),研究发现该探针能够选择性检测 ROS。该探针可以检测 MCF-7/ADR 癌细胞中 ROS。通过探针的干扰性能研究发现,过氧化氢和次氯酸作为氧化剂能够产生荧光发射。另外,通过生物硫醇可以实现被氧化探针的可逆生成。该研究作为研究氟硼二吡咯二硒化合物作为 ROS 传感器奠定基础。2017 年,Gong 等^[44]报道了一种基于苯硒基在 3 位与 H_2S 的取代反应的氟硼吡咯(BODIPY)荧光传感器 15,其对 H_2S 表现出良好选择性和灵敏度。过量硫化氢的加入促进了探针 5 位苯硒化基团的进一步取代,并伴随着荧光发射强度的进一步降低。传感器 15 在长激发波长下,显红色荧光强度下降 49 倍,检测限低至 $0.0025 \mu\text{mol/L}$,其中性检测体系中,对 H_2S 的特异性荧光响应超过阴离子、生物硫醇和其他氨基酸。生物成像研究发现传感器对细胞无明显毒性,对细胞膜通透性好,可用于细胞内 H_2S 的检测和荧光显微镜成像。

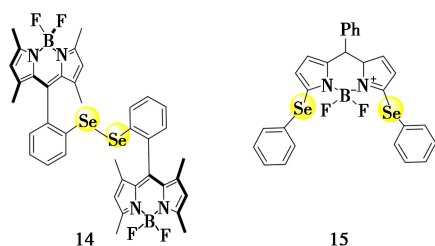


图 7 探针 14,15 的结构

Fig.7 Structures of probe 14,15

3 活性氧物质(ROS)荧光探针

2020 年,Pham 等^[45]报道了一种硒化合物荧光探针 16(图 8),可以通过 Mislow-Evans 重排反应实现 H_2O_2 选择性检测。该探针解决了小分子亲电探针 H_2O_2 在生物系统中需要很长时间才能产生充分反应的问题。其反应过程为探针与 H_2O_2 进行重排反应,然后缩醛水解,快速生成绿色荧光的苯酚结构分子。探针与 H_2O_2 反应的二级速率常数与硫醇与 H_2O_2 的反应处于同一数量级,表明细胞内 H_2O_2 的检测并未受到内源性硫

醇的干扰。在斑马鱼尾伤模型中,观察到其快速生成使用硒化物可以实时监测伤口附近的 H_2O_2 。该研究作为使用 Mislow-Evans 重排反应作为细胞内 H_2O_2 荧光检测提供了新的模式。

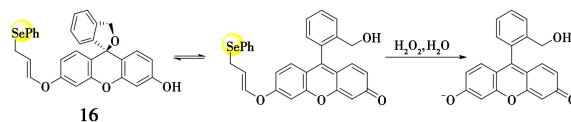


图 8 探针 16 对 H_2O_2 的检测机理

Fig.8 Proposed mechanism of probe 16 for detection of H_2O_2

2020 年,Ungati 等^[46]通过将萘酰亚胺荧光团与具有氧化还原活性的 Ebselen 连接起来合成了荧光探针 17。由于探针与 H_2O_2 反应产生 $-SeO_2H$, $-SeO_2H$ 具有强的吸电子能力,阻止了萘甲酰亚胺结构的 PET 过程,使其表现出强荧光发射。GSH 诱导使得探针发生可逆变化,可以用于研究细胞环境中谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的活性。因此,该探针在监测细胞内氧化还原周期的动态变化方面具有良好的应用前景。

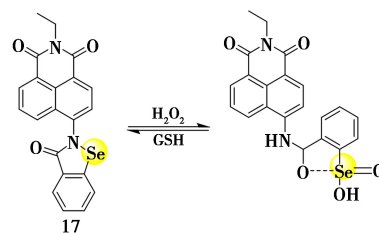


图 9 可逆产生强荧光发射硒酸的示意图

Fig.9 Diagram of reversible generation of the highly fluorescent seleninic acid

2022 年, Ma 等^[47]设计并制备了一种新型 H_2O_2 荧光探针 18(图 10)。研究发现,该探针遵循硒啡啉中的 $Se(II)$ 转化为 $Se(IV)$ 的机制,从而改变了探针 17 的光谱,并在 533 nm 处产生显著改善的荧光信号。值得注意的是,该探针可以

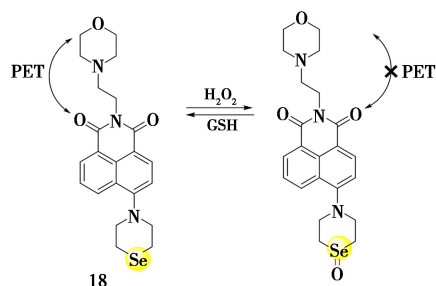


图 10 探针 18 对 H_2O_2 和 GSH 的检测机理

Fig.10 Proposed mechanism of probe 18 for detection of H_2O_2 and GSH

循环地对 H_2O_2 和谷胱甘肽 (GSH) 进行响应,因此有可能在体内实现氧化还原过程成像。荧光成像实验结果显示,探针 18 能有效检测 MCF-7 细胞和阿根廷血鲮中的 H_2O_2 。因此,该研究提供了一种有效的工具和方法,用于研究氧化应激诱导的细胞凋亡甚至坏死的生理过程,证明了探针 18 在体内检测 H_2O_2 方面具有良好的应用潜力。

过氧亚硝酸盐 (ONOO^-) 作为强氧化剂在生理和病理过程中起重要作用。 ONOO^- 浓度的变化对细胞环境产生有益和不利的影响。体内 ONOO^- 的平衡可以调节一些重要的细胞功能,如器官内稳态和维持细胞的完整性,同时增加 ONOO^- 导致 DNA 损伤,诱导细胞膜中脂质过氧化。荧光探针对于 ONOO^- 的检测优于其他报道的检测方法,目前有可以用于 ONOO^- 的选择性检测荧光探针还比较少。研究发现,已报道的 ONOO^- 荧光探针可以可逆地响应浓度变化,有助于研究工作者确定 ONOO^- 的生成代谢及其动态变化对活细胞的影响。

2011 年, Yu 等^[48] 报道了一种基于有机硒官能团的近红外可逆荧光探针 19 (图 11), 可用于生理条件下水溶液和活细胞中对过氧亚硝酸根氧化还原表现出高灵敏度和选择性。该探针有效地避免了生物系统中自发荧光的影响,对细胞的毒性最小,可实现活细胞的实时成像。研究结果表明,探针 19 可以用于可视化监测细胞内过氧亚硝酸盐水平。

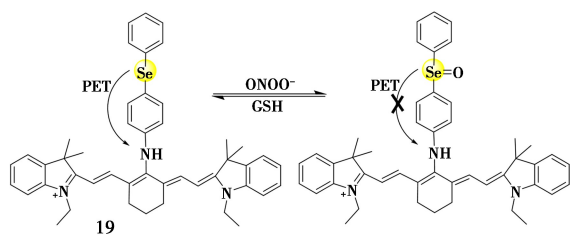


图 11 探针 19 及其氧化产物的结构和荧光增强机理

Fig.11 Structures of 19 and its oxidized products and the fluorescence enhancement mechanism

次氯酸是另一种活性氧,其作为抗菌剂在免疫系统中起重要作用。内源性次氯酸主要来源于白细胞,包括巨噬细胞,单核细胞和中性粒细胞中髓过氧化物酶 (Myeloperoxidase, MPO) 酶催化产生氯离子和过氧化氢。当微生物入侵时,HOCl 在免疫系统会作为一种防御机制。然而,过量的 HOCl 会导致多种人类疾病如关节炎、癌症和神经退化等。由于 HOCl 的重要性,因此开发高灵敏

度和高选择性的 HOCl 荧光探针非常重要。荧光探针技术可以监测 HOCl 的变化,有助于研究在活细胞中 HOCl 的动态分布。Se 元素在许多酶中是必不可少的成分,因其可以与活性氧发生反应,可作为一种膳食“抗氧化剂”。研究表明 HOCl 可以氧化二苯硒化物,从而实现 HOCl 的荧光检测。

2020 年, Zang 等^[49] 设计合成了一种基于硒化物的内质网靶向可逆荧光探针 20 (图 12)。该探针对 HClO 具有高的灵敏性和良好的选择性,其最低检测限为 $0.85 \mu\text{mol/L}$ 。该探针对 GSH 具有可逆检测能力。生物成像试验结果表明该探针能够成功应用于内源性和外源性 HClO 成像检测。此外,该探针具有极强的内质网靶向能力,可以精准的检测内质网中的氧化还原状态变化。2013 年, Wang 等^[50] 设计合成了一种可以检测细胞内和动物体内次氯酸的可逆荧光探针 21。该荧光探针对于次氯酸表现出高选择性、灵敏度。通过共聚焦荧光显微成像研究发现该探针可以用于可视化检测 HOCl,并对活细胞和活小鼠组织损伤小。该研究提出了一种具有潜在应用价值的荧光探针设计策略,并为进一步研究提供了生命系统中氧化还原生物学相关生物学过程的潜在工具。

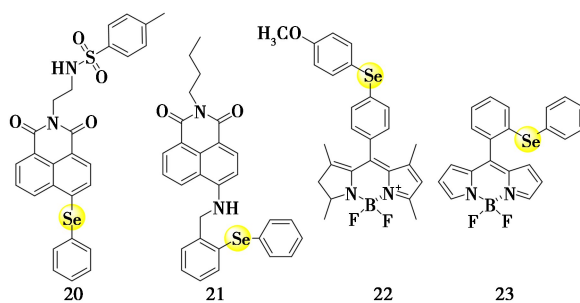


图 12 探针 20~23 的结构

Fig.12 Structures of probe 20~23

同年, Wang 等^[51] 基于含硒功能基团的 BODIPY 结构制备了一种新的可逆荧光探针 22。探针能被 HClO 快速氧化,表现出很强的荧光增强作用,其对 HClO 具有很高的灵敏性和选择性。此外,该探针具有良好的活细胞通透性,能够连续监测细胞内 HClO/ H_2S 氧化还原变化。该探针可用于检测次氯酸和硫化氢在溶液和活细胞中的氧化还原过程以及对类似疾病的检测。2013 年, Wu 等^[52] 设计合成了一种基于 BODIPY 的绿色含硒荧光探针 23,可以用于检测次氯酸。该探针结构中二苯基硒化物对 HOCl 表现出快速、高选择

性和灵敏性。该系统利用 HOCl 促进二苯基硒的氧化实现对待测物 HOCl 的荧光响应,探针被 HOCl 快速氧化形成 Se=O 双键,荧光发射增强,可以通过加入 GSH 还原。RAW264.7 细胞探针共聚焦荧光成像研究发现,探针 23 可用于评估 HOCl 在生物系统中的重要作用。

4 结论与展望

近年来,有机硒荧光探针因其对目标分析物具有良好选择性和灵敏性而被研究人员广泛关注,为荧光探针在生物体内的应用研究提供了平台。本文总结了能够检测金属离子、硫醇和活性氧物质的有机硒荧光探针的设计及检测机理。研究发现,在合成各种含硒的有机荧光探针中,通过改变发光基团或含硒的活性反应位点可以实现荧光性能的改变。本文对有机硒荧光探针针对不同分析物的识别模式讨论,其中包括在分析物存在下脱硒过程和荧光探针与分析物的反应过程。当有机硒化合物中存在 Se—N、Se—O 和 Se—P 键时,荧光探针表现出高反应活性,可以与亲电试剂或亲核试剂进攻发生氧化或消除反应,使得探针成为硫醇、金属阳离子和阴离子的荧光探针。另外,有机硒化合物具有低的氧化还原电位,该性能使得探针对各种 ROS 表现出高的灵敏性。因此,通过改变探针的空间效应和 Se 原子周围的官能团,实现有机硒荧光探针对于 ROS 的选择性和灵敏性。此外,探针的选择性、灵敏性、水溶性以及细胞渗透性对生物体系中的应用非常重要。基于以上的研究,未来的研究工作中,含硒荧光探针将可能朝以下 3 个方面进行:1.通过发光基团或识别基团的修饰,开发高效荧光响应和识别特异性的含硒元素荧光探针;2.开发具有特异性靶向位点识别的含硒荧光探针来实现对活细胞内生物活性物质的分布和生理作用研究,同时与小分子抗癌药物结合,实现药物在体内的精准释放;3.发展能够实时、动态检测体内活性物质的可视化含硒荧光探针。

参考文献:

- [1] LOWIG C J. Constitution of the organic compounds and comparison with the inorganics [J]. *Poggendorff's Ann. Phys.*, 1836, **37**: 552.
- [2] 江凡, 蒋振涛, 林升大, 等. 新型硒二唑衍生物荧光分子的合成及光电性能研究 [J]. *合成化学*, 2022, **30**(10): 771-776.
- [3] GABRIELE E, SINGH F V, FREUDENDAHL D M. Selenenylations of Alkenes with styrene nucleophiles [J]. *Tetrahedron*, 2012, **68**(51): 10 573-10 576.
- [4] SINGH F V, WIRTH T. Selenium reagents as catalysts [J]. *Catal. Sci. Technol.*, 2019, **9**(5): 1 073-1 091.
- [5] ZHANG X. In my element: Selenium [J]. *Chem. Eur. J.*, 2019, **25**(11): 2 649-2 650.
- [6] ZHANG J, YANG L, WANG Y, et al. Ebselen-agents for sensing, imaging and labeling: Facile and full-featured application in biochemical analysis [J]. *ACS Appl. Bio. Mater.*, 2021, **4**(3): 2 217-2 230.
- [7] ROTRUCK J T, POPE A L, GANTHER H E, et al. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase [J]. *Science*, 1973, **179**(4 073): 588-590.
- [8] BEHNE D, KYRIAKOPOULOS A, MEINHOLD H, et al. Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1990, **173**(3): 1 143-1 149.
- [9] TAMURA T, STADTMAN T C. A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: Purification, properties, and thioredoxin reductase activity [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, **93**(3): 1 006-1 011.
- [10] BHABAK K P, MUGESH G. Functional mimics of glutathione peroxidase: Bioinspired synthetic antioxidants [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2010, **43**(11): 1 408-1 419.
- [11] BHOWMICK D, SRIVASTAVA S, D' SILVA P, et al. Highly efficient glutathione peroxidase and peroxiredoxin mimetics protect mammalian cells against oxidative damage [J]. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2015, **127**(29): 8 569-8 573.
- [12] MAITI S, PARK N, HAN J H, et al. Gemcitabine-coumarin-biotin conjugates: A target specific theranostic anti-cancer prodrug [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**(11): 4 567-4 572.
- [13] HOU W, XU H. Incorporating selenium into heterocycles and natural products-from chemical properties to pharmacological activities [J]. *J. Med. Chem.*, 2022, **65**(6): 4 436-4 456.
- [14] TUO Q Z, MASALDAN S, SOUTHON A, et al. Characterization of selenium compounds for anti-ferroptotic activity in neuronal cells and after cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Neurotherapeutics*, 2021, **18**(4): 2 682-2 691.
- [15] DING W, WANG S, GU J, et al. Selenium and human nervous system [J]. *Chinese Chem. Lett.*, 2023, **34**(7): 108 043.

- [16] YUE Y, HUO F, CHENG F, et al. Functional synthetic probes for selective targeting and multi-analyte detection and imaging[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**(15): 4 155-4 177.
- [17] CHAN J, DODANI S C, CHANG C J. Reaction-based small-molecule fluorescent probes for chemoselective bioimaging[J]. *Nat. Chem.*, 2012, **4**(12): 973-984.
- [18] SUN B, LUO C, ZHANG H X, et al. Probing the impact of sulfur/selenium/carbon linkages on prodrug nanoassemblies for cancer therapy[J]. *Nat. Commun.*, 2019, **10**(1): 3 211.
- [19] 陈佳鑫, 田秦秦, 何伟. 有机小分子探针对过氧亚硝酸根离子的荧光检测响应机理的研究进展[J]. *分析化学*, 2024, **52**(2): 166-177.
- [20] MANJARE S T, KIM Y, CHURCHILL D G. Selenium- and tellurium-containing fluorescent molecular probes for the detection of biologically important analytes[J]. *Acc. Chem. Res.*, 2014, **47**(10): 2 985-2 998.
- [21] LIU Y, YU Y, ZHAO Q, et al. Fluorescent probes based on nucleophilic aromatic substitution reactions for reactive sulfur and selenium species: Recent progress, applications, and design strategies[J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **427**: 213 601.
- [22] MAMGAIN R, SINGH F V. Selenium-based fluorescence probes for the detection of bioactive molecules[J]. *ACS Org. Inorg. Au.*, 2022, **2**(4): 262-288.
- [23] ARAI K, MATSUNAGA T, UENO H, et al. Modeling thioredoxin reductase-like activity with cyclic selenenyl sulfides: Participation of an NH · Se hydrogen bond through stabilization of the mixed Se—S intermediate[J]. *Chem. Eur. J.*, 2019, **25**(55): 12 751-12 760.
- [24] ZHANG J, YANG L, WANG Y, et al. Ebselen-agents for sensing, imaging and labeling: Facile and full-featured application in biochemical analysis[J]. *ACS Appl. Bio. Mater.*, 2021, **4**(3): 2 217-2 230.
- [25] PIRILLO J, DE S B C, RUSSO N. Photophysical properties prediction of selenium- and tellurium-substituted thymidine as potential UVA chemotherapeutic agent[J]. *Theor. Chem. Acc.*, 2016, **135**: 1-5.
- [26] WANG J, CHEN M, ZHANG Z, et al. Selenium: From fluorescent probes to biomedical application[J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2023, **493**: 215 278.
- [27] MANJARE S T, KIM Y, CHURCHILL D G. Selenium- and tellurium-containing fluorescent molecular probes for the detection of biologically important analytes[J]. *Acc. Chem. Res.*, 2014, **47**(10): 2 985-2 998.
- [28] PANDA S, PANDA A, ZADE S S. Organoselenium compounds as fluorescent probes[J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2015, **300**: 86-100.
- [29] WU D, CHEN L, KWON N. Fluorescent probes containing selenium as a guest or host[J]. *Chem.*, 2016, **1**(5): 674-698.
- [30] TANG B, DING B, XU K, et al. Use of selenium to detect mercury in water and cells: An enhancement of the sensitivity and specificity of a seleno fluorescent probe[J]. *Chem. Eur. J.*, 2009, **15**(13): 3 147-3 151.
- [31] CHEN X, BAEK K H, KIM Y, et al. A selenolactone-based fluorescent chemodosimeter to monitor mercury/methylmercury species in vitro and in vivo[J]. *Tetrahedron*, 2010, **66**(23): 4 016-4 021.
- [32] 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]. *Inorg. Chem.*, 2010, **49**(3): 1 206-1 210.
- [33] SAMB I, BELL J, TOULLEC P Y, et al. Fluorescent phosphane selenide as efficient mercury chemodosimeter[J]. *Org. Lett.*, 2011, **13**(5): 1 182-1 185.
- [34] LI Y, HE S, LU Y, et al. Novel hemicyanine dye as colorimetric and fluorometric dual-modal chemosensor for mercury in water[J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2011, **9**(8): 2 606-2 609.
- [35] CHOU C Y, LIU S R, WU S P. A highly selective turn-on fluorescent sensor for Cu(II) based on an NSe₂ chelating moiety and its application in living cell imaging[J]. *Analyst*, 2013, **138**(11): 3 264-3 270.
- [36] MURALE D P, MANJARE S T, LEE Y S, et al. Fluorescence probing of the ferric Fenton reaction via novel chelation[J]. *Chem. Commun.*, 2014, **50**(3): 359-361.
- [37] AFZAL M S, PITTELOUD J P, BUCCELLA D. Enhanced ratiometric fluorescent indicators for magnesium based on azoles of the heavier chalcogens[J]. *Chem. Commun.*, 2014, **50**(77): 11 358-11 361.
- [38] TANG B, XING Y, LI P, et al. 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): 11 666-11 667.
- [39] TANG B, YIN L, WANG X, et al. A fast-response, highly sensitive and specific organoselenium fluorescent probe for thiols and its application in bioimaging[J]. *Chem. Commun.*, 2009, **35**: 5 293-5 295.
- [40] WANG R, CHEN L, LIU P, et al. Sensitive near-infrared fluorescent probes for thiols based on Se—N bond cleavage: Imaging in living cells and tissues[J]. *Chem. Eur. J.*, 2012, **18**: 11 343.

- [41] XU K, QIANG M, GAO W, et al. A near-infrared reversible fluorescent probe for real-time imaging of redox status changes in vivo [J]. *Chem. Sci.*, 2013, **4**(3): 1 079-1 086.
- [42] HAN X, YU F, SONG X, et al. Quantification of cysteine hydropersulfide with a ratiometric near-infrared fluorescent probe based on selenium-sulfur exchange reaction [J]. *Chem. Sci.*, 2016, **7**(8): 5 098-5 107.
- [43] MANJARE S T, KIM S, HEO W D, et al. Selective and sensitive superoxide detection with a new diselenide-based molecular probe in living breast cancer cells [J]. *Org. Lett.*, 2016, **7**(2): 1 051-1 056.
- [44] GONG D, ZHU X, TIAN Y, et al. A phenylselenium-substituted BODIPY fluorescent turn-off probe for fluorescence imaging of hydrogen sulfide in living cells [J]. *Anal. Chem.*, 2017, **89**(3): 1 801-1 807.
- [45] PHAM D, BASU U, POHORILETS I, et al. Fluorogenic probe using a mislow-evans rearrangement for real-time imaging of hydrogen peroxide [J]. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2020, **132**(40): 17 588-17 594.
- [46] UNGATI H, GOVINDARAJ V, NARAYANAN M, et al. Probing the formation of a seleninic acid in living cells by the fluorescence switching of a glutathione peroxidase mimetic [J]. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2020, **59**(40): 17 435-17 441.
- [47] MA T, FU K, LI Z, et al. A novel hydrogen peroxide fluorescent probe for bioimaging detection and enables multiple redox cycles [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2022, **276**: 121 218.
- [48] YU F, LI P, LI G, et al. A near-IR reversible fluorescent probe modulated by selenium for monitoring peroxynitrite and imaging in living cells [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**(29): 11 030-11 033.
- [49] ZANG S, KONG X, CUI J, et al. Revealing the redox status in endoplasmic reticulum by a selenium fluorescence probe [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2020, **8**(13): 2 660-2 665.
- [50] LOU Z, LI P, PAN Q, et al. A reversible fluorescent probe for detecting hypochloric acid in living cells and animals; Utilizing a novel strategy for effectively modulating the fluorescence of selenide and selenoxide [J]. *Chem. Commun.*, 2013, **49**(24): 2 445-2 447.
- [51] WANG B, LI P, YU F, et al. A reversible fluorescence probe based on Se-BODIPY for the redox cycle between HClO oxidative stress and H₂S repair in living cells [J]. *Chem. Commun.*, 2013, **49**(10): 1 014-1 016.
- [52] LIU S R, WU S P. Hypochlorous acid turn-on fluorescent probe based on oxidation of diphenyl selenide [J]. *Org. Lett.*, 2013, **15**(4): 878-881.