

SCIENTIA SINICA Chimica

# 中国科学 化学

第45卷 第8期 2015年8月

CN 11-5838/O6 ISSN 1674-7224 eISSN 2095-9435



中国科学院主办  
国家自然科学基金委员会

# 《中国科学》《科学通报》

荣誉总主编：周光召 总主编：朱作言

## 《中国科学：化学》编辑委员会

主 编：万立骏 中国科学院化学研究所

副主编：曹 镛 华南理工大学材料科学与工程学院 陈洪渊 南京大学化学化工学院 冯守华 吉林大学化学学院

李亚栋 清华大学化学系 林国强 中国科学院上海有机化学研究所

田 禾 华东理工大学化学与分子工程学院 田中群 厦门大学化学化工学院 薛子陵 University of Tennessee, USA

编 委：

### 无机化学

卜显和	南开大学化学学院	陈小明	中山大学化学与化学工程学院	高 松	北京大学化学与分子工程学院
郭子建	南京大学化学化工学院	洪茂椿	中国科学院福建物质结构研究所	刘 俊	Pacific Northwest National Laboratory, USA
任咏华	香港大学化学系	熊仁根	东南大学化学化工学院	张洪杰	中国科学院长春应用化学研究所
郑南峰	厦门大学化学化工学院	左景林	南京大学化学化工学院		

### 有机化学

丁奎岭	中国科学院上海有机化学研究所	黄培强	厦门大学化学化工学院	黄 震	Georgia State University, USA
蒲 林	University of Virginia, USA	索祖才	The Ohio State University, USA	王梅祥	清华大学化学系
席 真	南开大学化学学院	谢作伟	香港中文大学化学系	姚祝军	南京大学化学化工学院
张德清	中国科学院化学研究所	张礼和	北京大学医学部药学院	赵玉芬	厦门大学化学化工学院

### 高分子科学

安立佳	中国科学院长春应用化学研究所	陈国平	National Institute for Materials Science, Japan	高长有	浙江大学高分子科学与工程系
管治斌	University of California, Irvine, USA	李永舫	中国科学院化学研究所	乔金樑	中国石油化工股份有限公司北京化工研究院
唐本忠	香港科技大学化学系	汤华荣	Commonwealth Scientific & Industrial Research Organisation (CSIRO), Australia	杨 柏	吉林大学化学学院
宛新华	北京大学化学与分子工程学院				

### 物理化学

包信和	中国科学院大连化学物理研究所	韩布兴	中国科学院化学研究所	胡培君	Queen's University, UK
梁文平	国家自然科学基金委员会	刘智攀	复旦大学化学系	刘忠范	北京大学化学与分子工程学院
帅志刚	清华大学化学系	王 树	中国科学院化学研究所	王 野	厦门大学化学化工学院
杨学明	中国科学院大连化学物理研究所	张劲松	University of California, Riverside, USA	张金中	University of California, Santa Cruz, USA
赵新生	北京大学化学与分子工程学院	庄 林	武汉大学化学与分子科学学院		

### 分析和环境化学

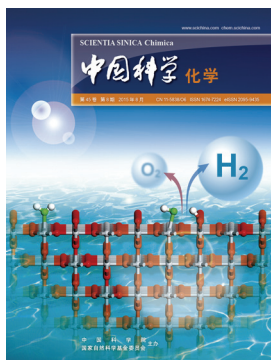
C. Amatore	Ecole Normale Supérieure, France	柴之芳	中国科学院高能物理研究所	陈 义	中国科学院化学研究所
R. Compton	University of Oxford, UK	鞠焯先	南京大学化学化工学院	乐晓春	University of Alberta, Canada
林金明	清华大学化学系	邵元华	北京大学化学与分子工程学院	谭蔚泓	湖南大学化学化工学院
汪海林	中国科学院生态环境研究中心	杨芾原	复旦大学生物医学研究院	张玉奎	中国科学院大连化学物理研究所
赵进才	中国科学院化学研究所	赵宇亮	国家纳米科学中心	朱 彤	北京大学环境科学与工程学院

### 化学工程

段 雪	北京化工大学理学院	何鸣元	中国石化石油化工科学研究院	陆小华	南京工业大学化学化工学院
骆广生	清华大学化学工程系	聂书明	Georgia Institute of Technology and Emory University, USA	孙立成	Royal Institute of Technology, Sweden
徐春明	中国石油大学(北京)	张锁江	中国科学院过程工程研究所	张 涛	中国科学院大连化学物理研究所

责任编辑：付利 许军舰 张学梅 郑建芬 封面设计：胡 煜





**封面说明** 能源紧缺和环境恶化已经成为当前影响人类社会持续发展的大问题,发展干净的可再生能源是社会发展的必然选择,而利用太阳能光解水制氢是解决当前能源和环境问题的有效方式之一. 二氧化钛是一种非常重要且应用广泛的光催化材料,然而水在二氧化钛表面的吸附状态直接影响材料的性能,因此关于二氧化钛与水界面相互作用问题的研究至关重要. 本文简要阐述了二氧化钛与水界面理论计算可能存在的问题以及水在二氧化钛表面的吸附状态和动力学演化机制. 通过分析和比较前期的二氧化钛与水界面理论计算结果,得出了水在理想二氧化钛表面不解离的结论,并完美地解释了以前理论计算模型计算结果不同的实质(见本期评述:唐振坤,殷文金,耿巍,闻波,张登玉,刘利民. 二氧化钛与水界面的理论研究进展. p755-764).

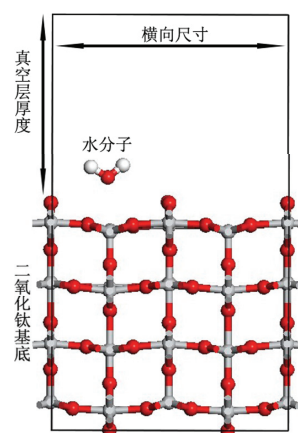
## 理论与计算化学发展战略专题

### 专题: 评述

#### 二氧化钛与水界面的理论研究进展

唐振坤, 殷文金, 耿巍, 闻波, 张登玉, 刘利民

中国科学:化学, 2015, 45(8): 755-764



#### 药物研发领域中的开放访问数据库

刘志海, 李婕, 韩莉, 李嫣, 刘杰, 聂伟,

刘宇晨, 王任小

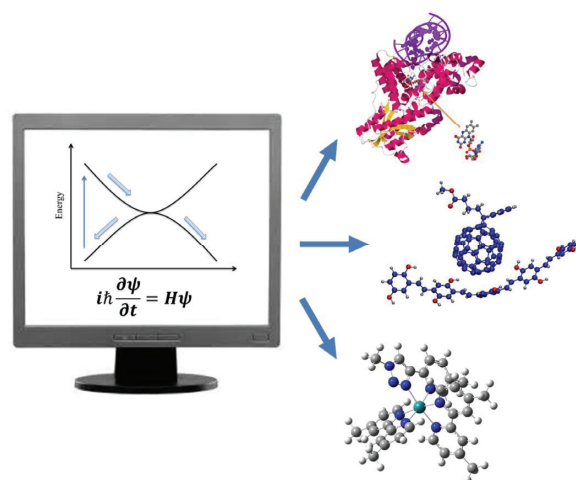
中国科学:化学, 2015, 45(8): 765-776



---

## 化学动力学中的非绝热过程及其理论研究

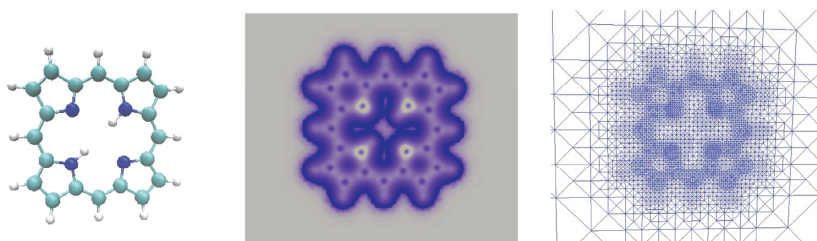
胡德平, 谢宇, 黄静, 杜利凯, 郑杰, 兰峥岗  
中国科学:化学, 2015, 45(8): 777-799



---

## 电子结构计算的有限元方法

戴小英, 周爱辉  
中国科学:化学, 2015, 45(8): 800-811



---

## 评述

### 气体信号分子的荧光小分子探针

严义勇, 张玲, 吴谦, 余孟颖, 杨超, 陈柱文,  
张健, 赵镜一, 唐红梅, 王双卫, 冯耿超,  
魏炜, 洪梅, 赵劲  
中国科学:化学, 2015, 45(8): 812-828



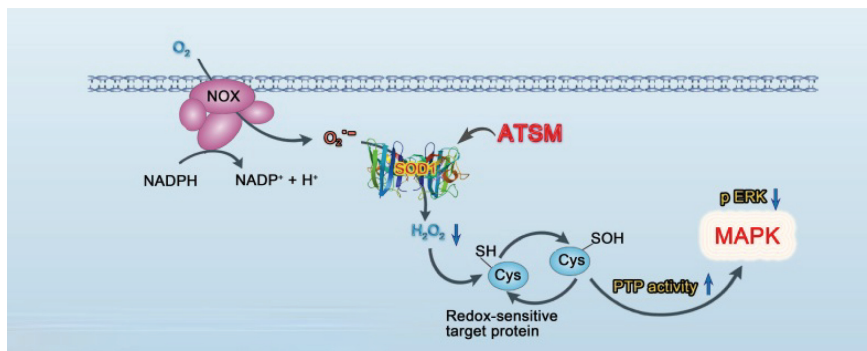


## 论文

### 胞内 SOD1 活性的 ATSM 抑制对 ERK 信号通路的影响

张哲, 陈欢欢, 杨婵丽, 章丹, 刘春荣, 刘长林

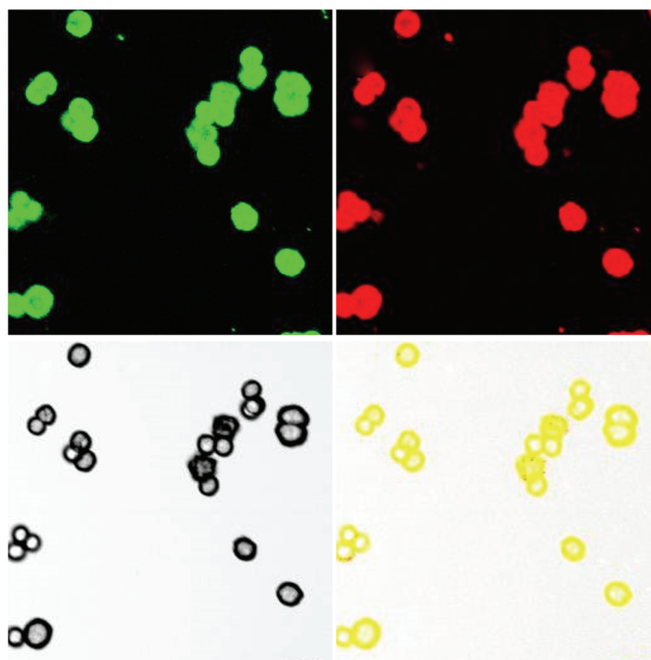
中国科学:化学, 2015, 45(8): 829–835



### 逐层自组装微囊对甲氨蝶呤的体外可控释放研究

白志军, 刘雨双, 郭俊, 侯静, 赵欣敏, 张峰

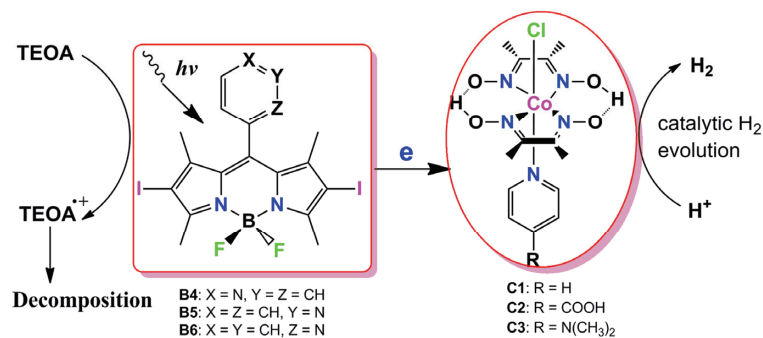
中国科学:化学, 2015, 45(8): 836–842



基于氟硼吡咯、氮杂氟硼吡咯光敏剂的均相光解水制氢研究

李晓聪, 骆耿耿, 方凯, 周经纬, 赵清华, 巫瑞波

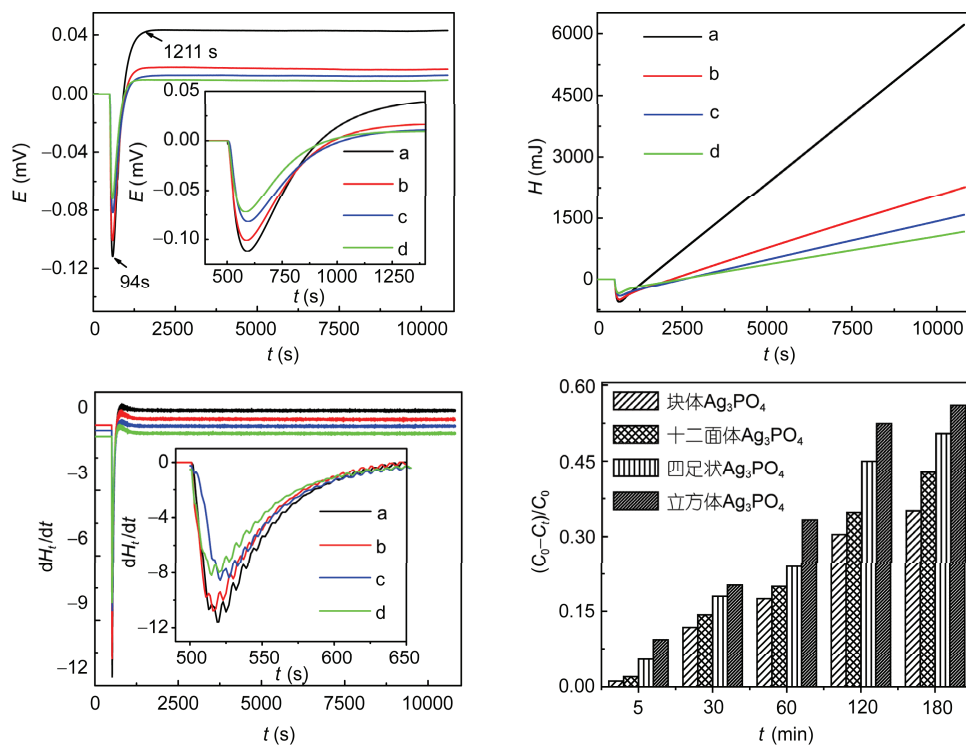
中国科学:化学, 2015, 45(8): 843-854



不同形貌 Ag<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 光催化过程热力学、动力学及表面热力学效应

刘作娇, 范高超, 黄叶玲, 覃小幸, 黄在银, 谭学才, 钟莲云, 刘绍刚, 廖艳娟

中国科学:化学, 2015, 45(8): 855-862





## 评述

## 气体信号分子的荧光小分子探针

严义勇<sup>①</sup>, 张玲<sup>③</sup>, 吴谦<sup>①</sup>, 余孟颖<sup>①</sup>, 杨超<sup>①</sup>, 陈柱文<sup>①</sup>, 张健<sup>①</sup>, 赵镜一<sup>①</sup>, 唐红梅<sup>①</sup>, 王双卫<sup>④</sup>, 冯耿超<sup>④</sup>, 魏炜<sup>②</sup>, 洪梅<sup>①</sup>, 赵劲<sup>①②\*</sup>

① 北京大学深圳研究生院化学生物学与生物技术学院, 深圳 510008

② 医药生物技术国家重点实验室; 化学与生物医药科学研究所, 南京大学生命科学学院, 南京 210093

③ 江苏省新药研究与临床药学重点实验室; 徐州医学院药学院, 徐州 221004

④ 深圳市安保科技有限公司, 深圳 518052

\*通讯作者, E-mail: jingzhao@nju.edu.cn

收稿日期: 2014-12-25; 接受日期: 2015-02-04; 网络版发表日期: 2015-07-20

doi: 10.1360/N032014-00328

**摘要** 生命体系中存在各种各样的气体分子, 这些气体分子在体内扮演着重要角色. 其中, 一氧化氮、一氧化碳和硫化氢是目前已经被广泛认可的三大气体信号分子, 具有传导信号通路的功能, 进而调控相关生理事件. 随着对气体信号分子的研究日益广泛, 它们在生命体系中的作用需要更深入地被了解, 以便更好地对其功能进行调控. 达到这个目的的挑战之一是需要对其进行快速、高选择、高灵敏度的分析检测和成像研究. 近年来, 对气体信号分子的分析检测和成像研究已经成为化学生物学、生物无机化学、药学和医学的一个重要交叉方向. 本文对近十几年来这个领域的主要手段之一荧光小分子探针进行粗浅综述, 期待引起相关学科同行的兴趣.

**关键词**

气体信号分子  
荧光成像  
小分子探针

## 1 引言

气体信号分子是生命体系中一类重要的信号分子, 它们起着传导生理信号的重要作用, 与其他信号分子一起, 广泛参与生理功能的调控. 气体信号分子的特点是含量较低、体积小、极易扩散、可以转化成不同的存在形式. 这些特点使得气体信号分子的跟踪测定较为困难. 发展灵敏度高、选择性好的分析与检测技术是生命科学发展中最具挑战性的前沿课题之一, 也是阐明气体信号分子如何参与各种生命活动及病变过程的关键. 目前, 针对气体分子的检测方法有许多种, 包括电化学法、色谱法和荧光探针技术等. 前两种方法具有设备昂贵、操作复杂、直观性不强的特点, 并且难以应用到生命体内. 而基于荧光小分子探针的成像技术能够实现细胞甚至活体的实时

可视化示踪, 在研究信号转导、细胞生理病理功能方面具有无损、实时、灵敏度高、信号可调控等优势. 本文对识别气体信号分子的荧光小分子探针的设计、识别机制及其生物学应用进行了综述.

## 2 一氧化氮

一氧化氮(nitric oxide, NO)是一种自由基气体分子, 由HuMphrey Davy于1935年发现, 最初被当作大气中的环境污染物, 之后逐渐发现NO是人体内重要的信号分子, 在心血管、神经和免疫系统中发挥着不可替代的调节作用. 因其重要的生理功能, NO被*Science*评为1992年度“明星分子”<sup>[1]</sup>. NO作为内皮舒张因子, 能够调节血管平滑肌的舒张, 降低血压; NO具有信号转导功能, 参与调节神经递质的释放;



NO 能抑制血小板和白细胞的黏附, 是重要的免疫调节分子<sup>[2]</sup>. 一系列重大疾病如阿尔茨海默症、动脉粥样硬化和癌症等通常与 NO 生理浓度失调有密切关系<sup>[3]</sup>. 此外, NO 作为一种寿命短的脂溶性信使分子, 性质活泼, 在体内极易扩散; 同时易转化成多种活性氮物种, 如过氧亚硝酸根离子(ONOO<sup>-</sup>)、亚硝酸根阴离子(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)和亚硝酸酰氢(HNO)等, 使 NO 体内的实时捕获和检测较困难<sup>[4]</sup>. 因此, 设计合成荧光探针用于实时、简单方便地检测体内 NO 的浓度和分布具有重要的意义.

## 2.1 邻苯二胺反应基团 NO 荧光探针

芳香邻二胺类荧光探针利用了光诱导电子转移原理(photoinduced electron transfer, PET)来调控荧光的“关-开”<sup>[5]</sup>. 芳香邻二胺基团将电子转移到荧光基团受激发后空出的轨道, 使荧光基团被光激发到激发态的电子不能跃迁到基态, 从而导致荧光淬灭. 芳香邻二胺与 NO 氧化产物反应生成缺电子的三唑杂环, PET 过程受阻, 荧光基团重新发出荧光, 实现 NO 检测(图 1). 基于此原理, 研究者使用不同的荧光团开发了一系列具有芳香邻二胺基团的分子荧光探针,

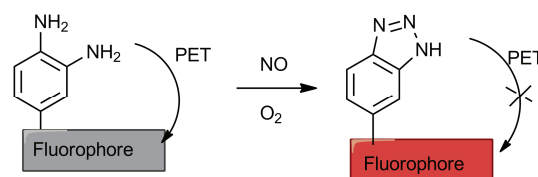


图 1 芳香邻二胺类荧光探针设计原理

包括 2,3-二氨基萘(DAN)、3,4-二氨基荧光素(DAFs)、3,4-二氨基罗丹明(DAR)、3,4-二氨基 BODIPY(DAMBO)以及 3,4-二氨基花菁(DAC)等<sup>[6]</sup>.

DAN 荧光探针能在氧气存在下间接检测 NO 的代谢中间产物 N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 和 N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. 由于该中间体的生成受 pH 影响, 使得 DAN 对 pH 十分敏感; 并且由于 DAN 的极性低, 在细胞内保留少, 不适合于活细胞中 NO 的检测<sup>[7]</sup>.

随后研究者开发了以荧光素为荧光团的 DAF 系列探针(图 2), 使芳香邻二胺类探针更适合于 NO 的细胞内检测. 由于 DAF 自身可完成内酯异构, 可以很好地进入细胞内<sup>[8]</sup>. 引入氟原子和甲基的 DAF-FM, 与 DAF 相比, 表现出更高的 pH 稳定性<sup>[9]</sup>.

为了增加光稳定性, 在更宽的 pH 范围内检测,

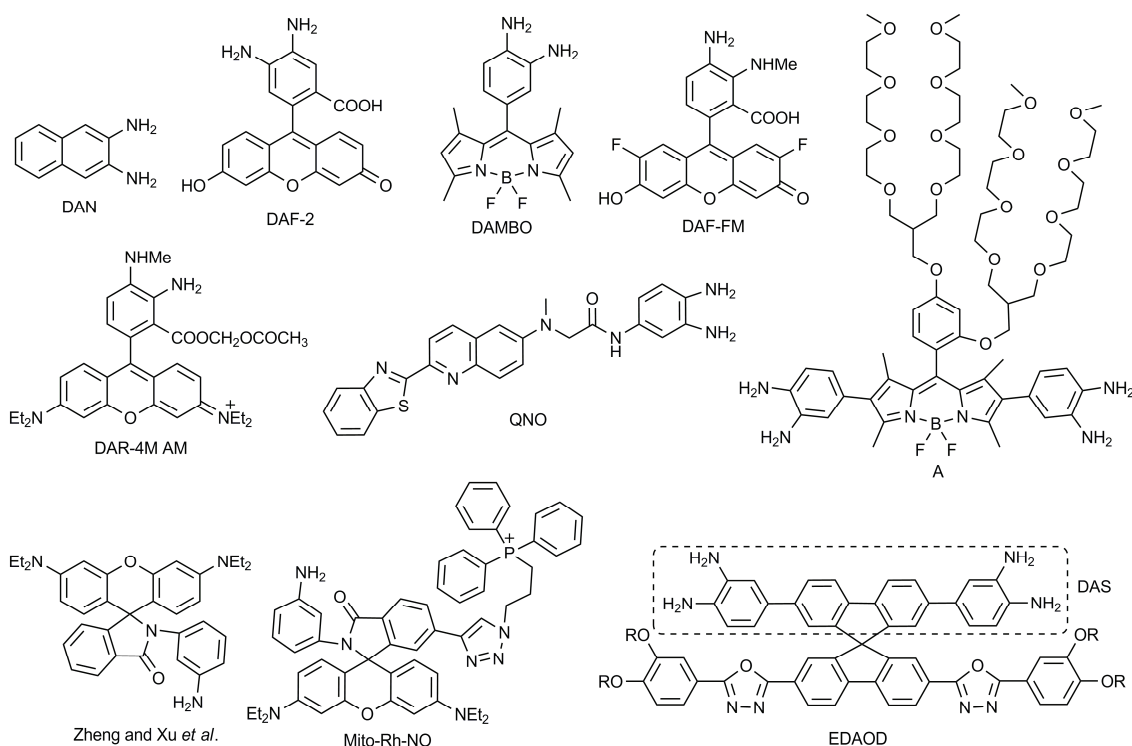


图 2 基于芳香邻二胺反应基团的 NO 荧光探针

Nagano 等<sup>[10]</sup>设计了以罗丹明为荧光团的探针, 并引入了更易穿透胞膜的乙酰氧甲基酯结构, 合成了带有更易水解可进行细胞染色的乙酰氧甲基酯结构的 DAR-4M AM<sup>[11]</sup>, 其检测限达到 7 nmol/L, 具有更好的信噪比。

由于活细胞内 NO 浓度极低, 因此对其检测的探针需要具有较高的荧光强度, 以提供良好信号输出, 而 BODIPY 荧光团是个较好的选择. Nagano 等<sup>[12]</sup>合成了以 BODIPY 为荧光团的 DAMBO 系列探针, 该系列探针与 NO 反应后荧光量子产率达到 0.74, 可以对 nmol 量级的 NO 产生清晰的信号响应, 满足体内检测的实际需求. Liu 等<sup>[13]</sup>设计了高亲水性的 BODIPY 的探针 A, 在 *meso* 位引入低聚乙二醇长链, 该探针可以很好地进入 ARPE-19 细胞中, 加入 NO 供体 NOC-7 后, 荧光强度随孵育时间延长而增强。

Xu 等<sup>[14]</sup>设计了基于罗丹明 B 酰肼开环的荧光探针. 当罗丹明处于螺环闭合时不具有荧光, 内酰胺形式的苯二胺基团在氧气存在下与 NO 反应生成苯并三唑, 罗丹明螺环结构打开, 恢复荧光. Jin 等<sup>[15]</sup>基于相似的原理, 在罗丹明荧光团上引入线粒体靶向基团三苯基膦, 设计了探针 Mito-Rh-NO, 实现了在 MCF-7 细胞线粒体内的 NO 检测。

2011 年, Wong 等<sup>[16]</sup>设计了双极性螺二苄桥连的荧光探针 EDADO. 该探针反应基团 DAS 反应生成 EDADO-T 终止 PET 效应时, 同时伴随着 FRET 效应, 荧光强度显著增强. 2014 年, Liu 等<sup>[17]</sup>设计了基于芳香邻二胺结构的新型双光子探针 QNO (图 2), 发射波长 810 nm, 可以深入到组织 90~180  $\mu\text{m}$ , 成功实现了对小鼠海马中 NO 的检测。

## 2.2 非邻苯二胺反应基团 NO 荧光探针

Shear 等<sup>[18]</sup>利用重氮化反应合成了探针 NO<sub>550</sub>, 在氧气存在下与 NO 反应生成 AZO<sub>550</sub>, 游离氨基生成偶氮结构(图 3). 该探针可用于细胞内实时监测 NO, 生物相容性良好. Guo 等<sup>[19]</sup>利用同样的 NO 反应基团, 使用 BOIPY 作为荧光团设计了新的探针 ADB, 该探针对 NO 的选择性比 NO<sub>550</sub> 更好。

Wang 等<sup>[20]</sup>报道了 NO 在氧气条件下完成脱氨基的探针 FA-OMe (图 4). 同样利用游离氨基 PET 效应淬灭荧光, 与 NO 反应直接脱除氨基而恢复荧光, 该探针可用于细胞内 NO 的检测。

Gong 等<sup>[21]</sup>使用香豆素荧光团连接汉斯酯设计探

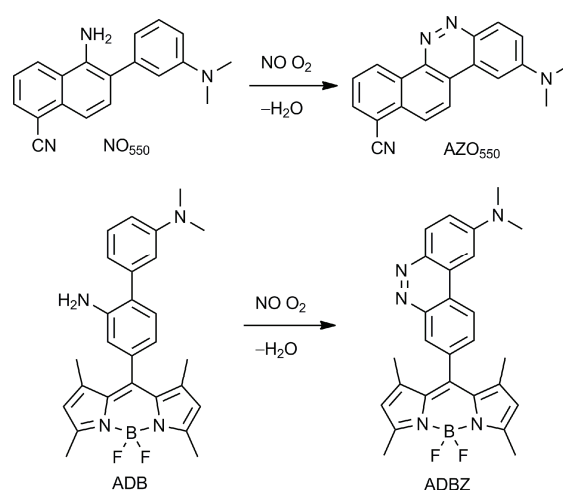


图 3 基于重氮化反应的 NO 荧光探针

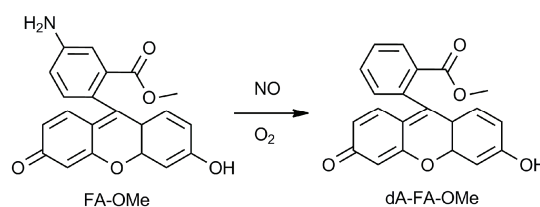


图 4 基于脱氨基反应的 NO 荧光探针

针(图 5). 在不需要氧气的条件下, NO 氧化二氢吡啶生成具有芳香性的吡啶结构, 阻断 PET 效应. 该探针在不同 pH 下对 NO 均有高特异性的线性响应。

通过对 NO 自旋捕集剂的修饰, Sustmann 等<sup>[22,23]</sup>合成了荧光捕集剂探针(FNOCT, 图 6), 此类探针可以直接与 NO 反应, 而无需氧气的参与, 检测限可达 nmol/L 级. 但由于此类探针也会与细胞内 OONO<sup>-</sup>反应, 因此其选择性较差。

## 2.3 金属型 NO 荧光探针

传统的非金属有机小分子荧光探针大多数不能直接检测 NO, 而是检测 NO 的氧化活性物种, 对 NO 进行间接测量, 存在一定的误差. 金属型荧光探针可

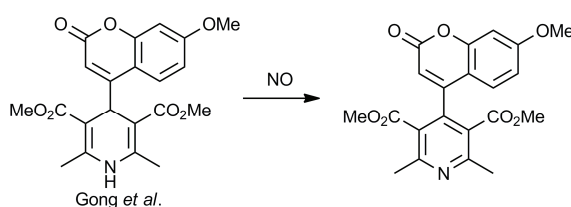


图 5 基于氧化反应的 NO 荧光探针

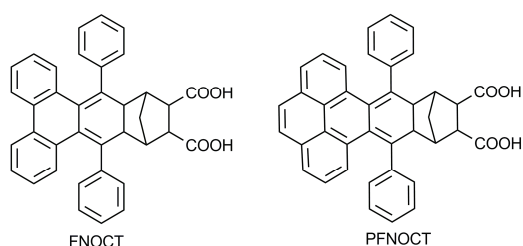


图6 电子捕获剂类 NO 荧光探针

以直接特异性检测 NO, 其设计原理是荧光团与顺磁性过渡金属配位后, 荧光淬灭(图7). NO 通过与金属配位取代荧光团, 使荧光团解离; 或者还原金属消除顺磁性, 恢复荧光团荧光<sup>[24]</sup>. Lippard 课题组在该领域做了大量的工作:

(1) 荧光团取代的 NO 金属探针. Soh 等<sup>[25]</sup>利用生理条件下 NO 与鸟苷酸环化酶中铁离子结合, 设计了比率型铁配合物荧光探针(图8). Fe 与 Mmc-cyclam 配位作为荧光团, TEMPO 和吡啶连接作为另一荧光团. 生理条件下, 由于探针对氧气敏感, 对 NO 响应慢, 该探针不适用于细胞内 NO 成像.

(2) NO 还原金属的 NO 金属探针. Lippard 等<sup>[26]</sup>用丹酰乙二胺和丹酰氨基甲基吡啶配体合成 Cu(II)配合物 $[\text{Cu}(\text{Ds-en})_2]$ 和 $[\text{Cu}(\text{Ds-AMP})_2]$ , 由于二价铜离子具有顺磁性, 荧光基团的荧光被淬灭. 当 NO 还原铜离子成反磁性的一价离子时, 荧光强度上升. 在 pH 9.0 的水-乙醇混合溶液中加入 100 当量的 NO, 荧光强度增强了 2 倍. 而丹酰基团也可以作为荧光团, 形

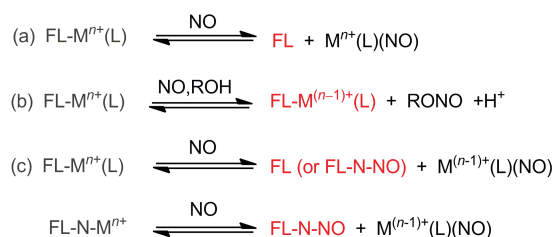


图7 金属型 NO 荧光探针的设计原理

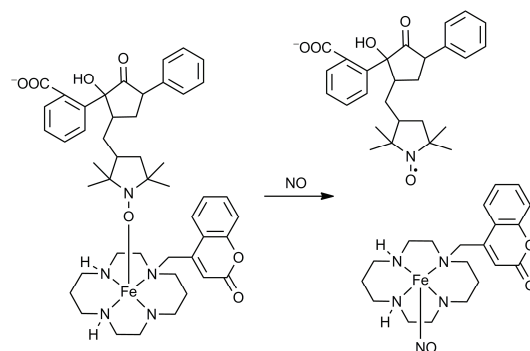


图8 Fe 配合物 NO 荧光探针

成配合物 $[\text{Cu}(\text{L}2)\text{Cl}]^+$  (图9)<sup>[27]</sup>, 该配合物对 NO 的选择性较好.

Lippard 等<sup>[28]</sup>还利用荧光素基团与 Cu(II)形成配合物 CuFL, NO 还原金属离子, 同时荧光基团解离, 荧光增强. 在中性水相条件下, 检测限低至 5 nmol/L. 并且成功用于 Raw 264.7 和 SK-N-SH 细胞内的 NO 检测. Lippard 等<sup>[29]</sup>对该探针进行了修饰, 利用对称

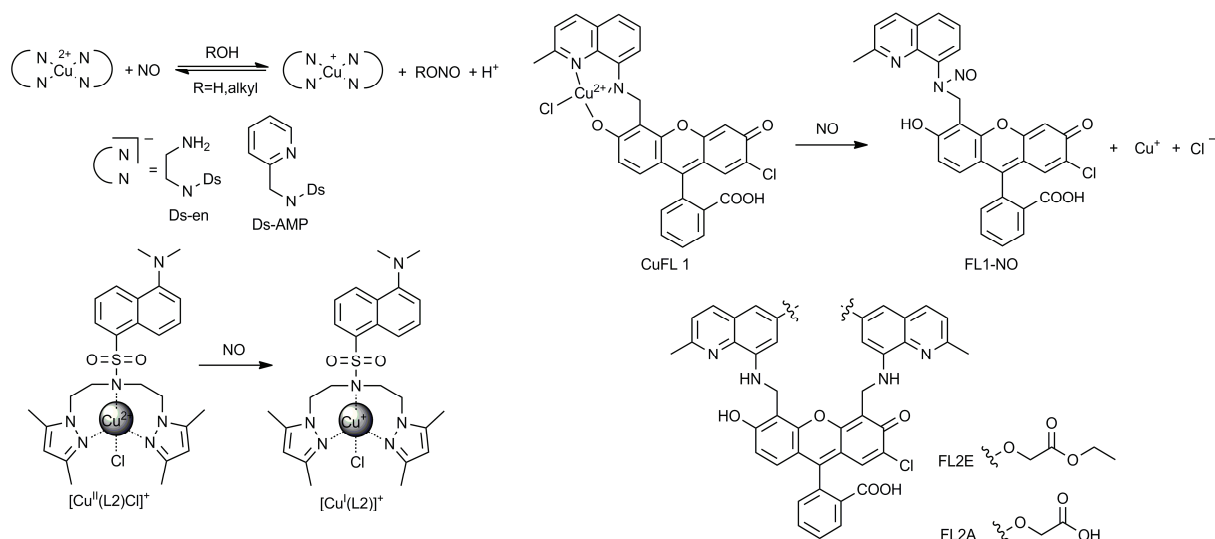


图9 基于金属还原原理的 NO 荧光探针



的喹啉类荧光团, 改善不对称体系的电子传递动力学行为, 实现对 NO 的快速响应。

## 2.4 亚细胞器靶向的 NO 荧光探针

线粒体是哺乳细胞中 NO 产生的主要场所, 在许多生理事件中都有参与<sup>[30]</sup>。例如, NO 可以与细胞色素 C 氧化酶中的卟啉相结合, 影响酶功能。而 NO 还能进一步被氧化成各种氮氧化物, 氧化损伤线粒体中的各种蛋白。以上可能尚未完全阐释清楚, NO 与线粒体的关系仍需进一步研究。因此, 测定线粒体中的 NO 含量有重要意义。为了满足这一需求, Yu 等<sup>[15]</sup>开发了以三苯基膦为靶向基团的首个线粒体靶向探针 Mito-Rh-NO。该探针对线粒体有高度靶向性, 并且对 NO 有较好的荧光开启行为(60 倍), 检测限为 4 nmol/L。随后, Guo 等<sup>[31]</sup>开发的焦宁为发光团的 NO 探针, 尽管该探针并无最常用的线粒体靶向基团三苯基膦, 但被发现有良好的线粒体靶向性。

除了线粒体外, 溶酶体也是常见的靶向亚细胞器。Jin 等<sup>[32]</sup>利用吗啉开发了首个溶酶体靶向的 NO 探针 Lyso-NINO (图 10)。该探针在溶酶体内对 NO 进行了成像, 并且具有双光子性能。这个探针为探索 NO 与溶酶体的关系提供了重要工具。

NO 在心血管系统、免疫系统和神经系统等中发挥着重要功能。基于有机小分子的荧光探针虽然十分灵敏, 但一般不能直接用于 NO 的检测; 利用 NO 结合到金属中心的金属配合物荧光探针, 具有响应速度较慢、荧光变化幅度较低的局限。如何发挥两者的优势, 实现体内 NO 的原位准确检测和动态变化观察, 仍需进一步的探索和研究(表 1)。

## 3 一氧化碳

此前对一氧化碳(carbon dioxide, CO)的研究一般

只认识到其毒害作用: CO 在人体内与血红蛋白中的铁进行配位, 并且这种配位能力比氧气强很多。近年来, 研究发现, 它是一种新型的神经递质, 主要由血红素氧合酶(hemeoxygenase, HO)催化分解血红素产生。一旦机体受到疾病或某些外源性药物和毒物的侵害, CO 便会通过 cGMP 途径或细胞膜的超极化引起机体血管扩张和平滑肌松弛从而形成一定的保护作用。虽然 CO 起着显著的信号传输作用, 但是其在生理与病理功能的许多方面仍难以得到清晰的认识, 最大的障碍是, 在生物系统中跟踪这样一个寿命短暂的气体分子的方法很有限。近年来, 有几个课题组报道了选择性识别 CO 的荧光探针, 为检测生命体系内 CO 及研究其功能提供了有效的工具。

Chang 等<sup>[33]</sup>合成了一种在 CO 诱导下发生插羰基反应引发荧光变化的环钌衍生物(图 11)。这种衍生物在生理 pH 缓冲液中在加入 CO 释放试剂 CORM-3 后, 在 60 min 中可以观察到 10 倍的荧光增强。此外, 在活 HEK293T 细胞中其对 CORM-3 的剂量依赖性研究还表明, 其对 CO 的选择性高于活性氧、活性氮和硫化物。利用相似原理, Cui 等<sup>[34]</sup>设计合成了一种咪唑香豆素(CC)衍生物双光子荧光探针, 该荧光探针首次在活体组织(鼠肝脏)中检测到了 CO 水平的变化。

最近, Wilton-Ely 等<sup>[35]</sup>开发了基于钌配合物的 CO 荧光探针。这个探针利用 CO 与金属中心的配位(图 12), 使得淬灭荧光原配位基团离去, 新配合物荧光得到增强。在 CO 体积分数为  $5 \times 10^{-9}$  时, 肉眼就可以明显观察到橙色到黄色的颜色变化。而且无论在空气还是溶液中, 其检测限都可以达到体积分数为  $1 \times 10^{-9}$ 。遗憾的是, 此探针未在生物体系内进行检测。

目前, CO 的荧光探针较少, 检测方法较为局限, 如何提供灵敏、高效的小分子荧光探针工具, 以进一

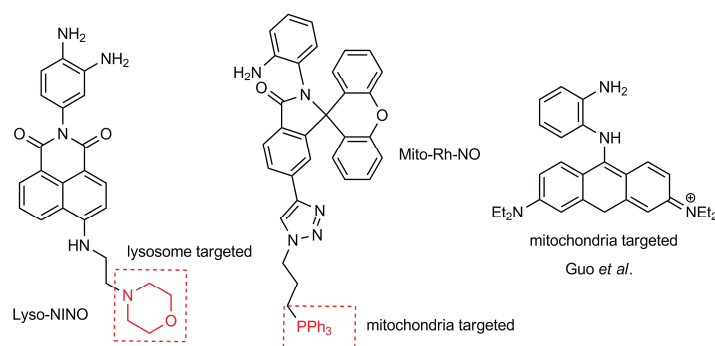


图 10 亚细胞器靶向的 NO 荧光探针

表1 NO 探针总结

探针	荧光团	$\lambda_{ex}$ (nm)	$\lambda_{em}$ (nm)	检测限 (nmol/L)	响应幅度(倍)	响应时间	输出类型
基于邻苯二胺的 NO 荧光探针							
DAN <sup>[7]</sup>	萘	375	415	10	100	–	开启型
DAF-2 <sup>[8]</sup>	荧光素	495	515	5	200	–	开启型
DAF-FM <sup>[9]</sup>	荧光素	495	515	3	–	–	开启型
DAR-4M AM <sup>[11]</sup>	罗丹明	560	575	7	–	150 s	开启型
DAMBO <sup>[12]</sup>	BODIPY	498	507	2	–	15 min	开启型
A <sup>[13]</sup>	BODIPY	539	570	44	–	1 h <sup>a)</sup>	开启型
Zheng <i>et al.</i> <sup>[14]</sup>	罗丹明	540	574	3	2400	30 s	开启型
Mito-Rh-NO <sup>[15]</sup>	罗丹明	555	585	4	60	5 min	开启型
EDADO-T <sup>[16]</sup>	螺二苄桥连	339	443	–	–	–	开启型
QNO <sup>[17]</sup>	喹啉	543	810	–	12	<10 min	开启型
Guo <i>et al.</i> <sup>[31]</sup>	焦宁	570	616	12	2743	30 min <sup>a)</sup>	开启型
Lyso-NINO <sup>[32]</sup>	NAP	440	530	5	16	15 min	开启型
非邻苯二胺的 NO 荧光探针							
PFNOCT <sup>[22]</sup>	NOCTs	340	400	–	–	4 min	开启型
AZO <sub>550</sub> <sup>[18]</sup>	其他	470	550	–	30	20 s	开启型
ADBZ <sup>[19]</sup>	BODIPY	480	518	–	30	30 min	开启型
FA-OMe <sup>[20]</sup>	罗丹明	460	524	–	44	20 min	开启型
Gong <i>et al.</i> <sup>[21]</sup>	香豆素	334	450	–	13	–	开启型
NO 金属荧光探针							
Fe-Mmc-cyclam <sup>[25]</sup>	其他	360	410	100	1.17	40 min	比率型
[Cu(Ds-en) <sub>2</sub> ] [Cu(Ds-AMP) <sub>2</sub> ] <sup>[26]</sup>	其他	342	–	10	2	30 min	开启型
[Cu(L2)Cl] <sup>+</sup> <sup>[27]</sup>	丹酰	345	–	1.6	15	30 min	开启型
CuFL <sup>[28]</sup>	荧光素	503	526	5	–	5 min	开启型
Cu <sub>2</sub> (FL2E) <sup>[29]</sup>	荧光素	500	526	–	17	0.35 min	开启型
Cu <sub>2</sub> (FL2A) <sup>[29]</sup>	荧光素	499	526	–	23	0.6 min	开启型

a) 根据文中数据估算。

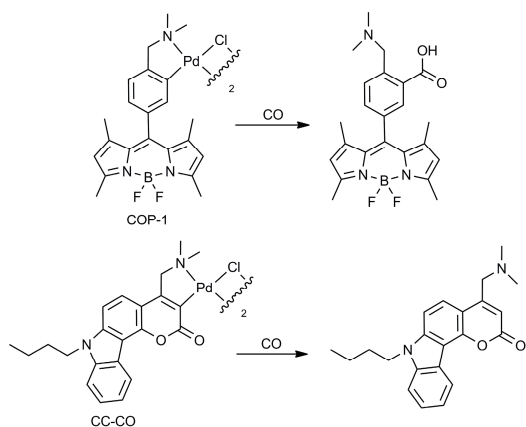


图11 基于插羰反应原理的荧光探针

步研究 CO 的化学生物学功能, 具有重要的意义(表 2)。

## 4 硫化氢

越来越多的研究证实, 硫化氢(hydrogen sulfide,

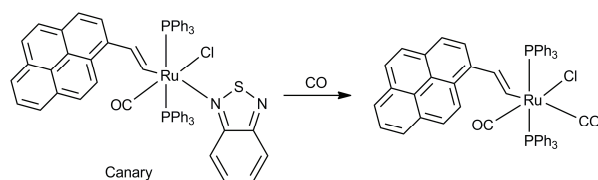


图12 基于金属中心配位取代原理的金属荧光探针

H<sub>2</sub>S)在人体内是继 NO 和 CO 之后的第三个内源性气体信号分子. 内源性 H<sub>2</sub>S 主要是由 L-半胱氨酸或它的衍生物通过酶解产生, H<sub>2</sub>S 合成酶包括胱硫醚-β-合成酶(CBS)、胱硫醚-γ-裂解酶(CSE)、3-巯基丙酮酸硫转移酶(3-MST)和半胱氨酸氨基转移酶(CAT)<sup>[36,37]</sup>. 生理水平的 H<sub>2</sub>S 参与一系列生理调节过程, 如神经传导、调节血管舒张、细胞凋亡、炎症、缺血再灌注损伤以及胰岛素分泌<sup>[38]</sup>. 此外, H<sub>2</sub>S 还能作为活性氧和活性氮物种的清道夫. 细胞一旦无法维持正常的 H<sub>2</sub>S 浓度, 可能会引发阿尔茨海默氏症、唐氏综合症、高

表 2 CO 探针总结

探针	荧光团	$\lambda_{\text{ex}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	检测限	响应幅度(倍)	响应时间(min)	输出类型
COP-1 <sup>[33]</sup>	BODIPY	475	505	-	10	60	开启型
CC-CO <sup>[34]</sup>	其他	355	495	653 nmol/L	11	40	开启型
Canary <sup>[35]</sup>	钌配合物	374	477	$1 \times 10^{-9}$ (体积分数)	36	-	开启型

血压和肝硬化等疾病。

近年来,对  $\text{H}_2\text{S}$  的研究已经有了较大进展,但其在生理病理状态下的复杂作用机制以及在细胞内的作用位点,仍然未知.并且已报道的内源性  $\text{H}_2\text{S}$  浓度竟然相差 5 个数量级.由于细胞中还存在其他硫醇类物质如半胱氨酸(Cys)和谷胱甘肽(GSH),后者在细胞中的浓度为 1~10 mmol/L.因此,如何在复杂的生物背景下选择性识别  $\text{H}_2\text{S}$  并对其进行精确的定量,实现生物体中  $\text{H}_2\text{S}$  分子的时间和空间的追踪和成像,是内源性  $\text{H}_2\text{S}$  研究领域的核心命题.

近年来,  $\text{H}_2\text{S}$  的荧光小分子探针由于在生物体系的适用性、高灵敏度、无损伤检测和较高时间与空间分辨率而受到研究者的关注,有了井喷式的发展<sup>[39,40]</sup>.研究者通过不同的分子框架设计了  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针.  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针的设计原理主要分三类: (1)  $\text{H}_2\text{S}$  还原叠氮/硝基为氨基; (2)  $\text{H}_2\text{S}$  的一步或两步亲核取代反应; (3) 生成金属硫化物.

#### 4.1 基于还原反应的 $\text{H}_2\text{S}$ 荧光探针

$\text{H}_2\text{S}$  可以与叠氮、羟胺和硝基发生还原反应,生成氨基取代产物,还原前后取代基有着不同的供吸电子能力,通过调节荧光团上各种取代基的供吸电子能力可以影响探针的电子密度分布及电子迁移,从而改变荧光分子的荧光强度变化、荧光淬灭和恢复、发射波长的蓝移或红移等,由此产生了一系列  $\text{H}_2\text{S}$  的荧光探针(图 13).

2011 年,Chang 等<sup>[41]</sup>基于罗丹明类荧光基团报道了利用叠氮作为反应基团的  $\text{H}_2\text{S}$  探针 SF1 和 SF2(图 14).结构中封闭的内酯结构使得探针分子没有荧光,当叠氮被  $\text{H}_2\text{S}$  选择性地还原为氨基时,内酯结构开环产生荧光.两者都可以在硫醇存在的反应体系中,表

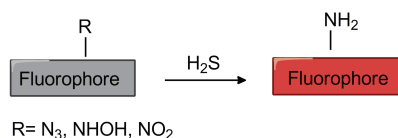


图 13 基于还原反应的  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针设计原理

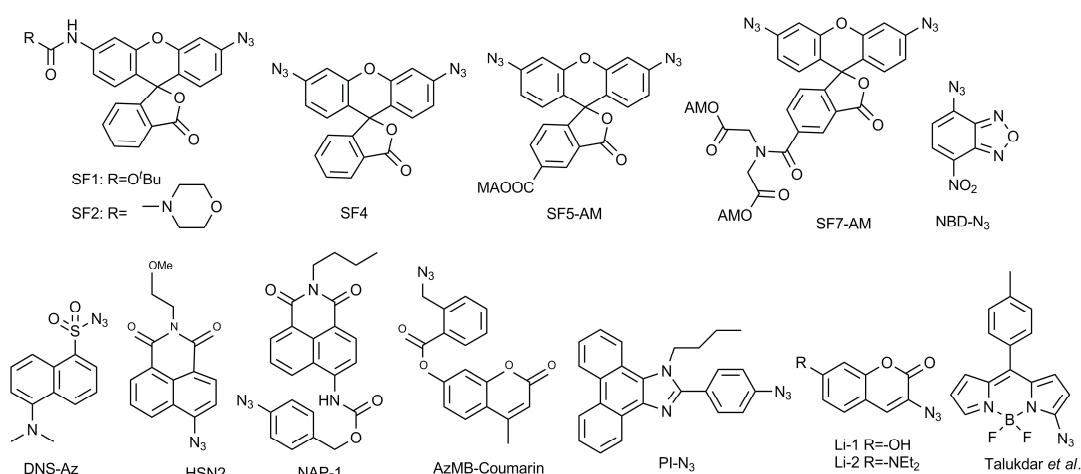
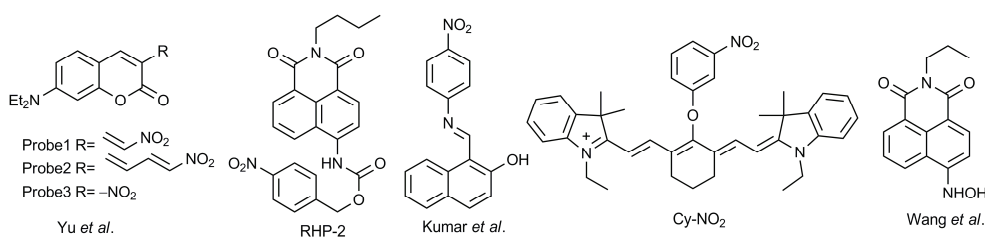
现出对  $\text{H}_2\text{S}$  的选择性,实现了在 HEK293T 细胞及其他哺乳动物细胞中对外源  $\text{H}_2\text{S}$  的强荧光响应.由于其检测限较低、响应时间较长,该课题组<sup>[40]</sup>对探针进行了改进,报道了新的探针 SF4、SF5-AM 和 SF7-AM(图 14),提高了其灵敏度和特异性.重大突破之处是, SF7-AM 实现了对内源  $\text{H}_2\text{S}$  的实时检测,表明了在内皮细胞中,内源性  $\text{H}_2\text{S}$  的产生除了依赖 CSE 外还有赖于血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2).

Wang 等<sup>[42]</sup>报道了探针 DNS-Az,该探针具有超过 170 nmol/L 的斯托克斯位移,10 s 内完成荧光响应,在已报道的探针中反应速度最快, DNS-Az 还用于小鼠血液  $\text{H}_2\text{S}$  的检测. Pluth 等<sup>[43]</sup>报道了一个萘酰亚胺类探针 HSN2,它与  $\text{H}_2\text{S}$  反应后荧光开启,在活细胞中对  $\text{H}_2\text{S}$  有较高的选择性及较好的信噪比. Han 等<sup>[44]</sup>设计了探针 AzMB-couMarin,基于叠氮被  $\text{H}_2\text{S}$  还原后生产氨基,进而发生分子内酰胺化,释放出香豆素类荧光物质,可用于成像 HeLa 细胞内的  $\text{H}_2\text{S}$ . Talukdar 等<sup>[45]</sup>以 BODIPY 为荧光母核,叠氮为  $\text{H}_2\text{S}$  识别基团的比率型荧光探针,该探针在血清白蛋白中 30 s 可反应完全,可实时动态检测 HeLa 细胞中  $\text{H}_2\text{S}$  浓度的变化. Lin 等<sup>[46]</sup>开发了一个以菲啉为荧光母核的探针 PI-N<sub>3</sub>. Li 等<sup>[47]</sup>制备了两个以香豆素为荧光母核的探针 Li-1 和 Li-2,可用于检测兔血中的  $\text{H}_2\text{S}$  含量及细胞内  $\text{H}_2\text{S}$  浓度的变化. Chen 等<sup>[48]</sup>报道了荧光探针 NBD-N<sub>3</sub>,可用于 MCF-7 细胞内  $\text{H}_2\text{S}$  的荧光成像.

Zhao 等<sup>[49]</sup>制备了比率型荧光探针 NAP-1.该探针具有检测限低、灵敏度高、选择性好、光稳定性好以及安全低毒的优点.在 PBS 缓冲液及牛血清中可实现  $\text{H}_2\text{S}$  的定量检测. NAP-1 能够实现 MCF-7 细胞中内源性  $\text{H}_2\text{S}$  的荧光比率成像及定量检测人血浆与小鼠海马组织中的内源性  $\text{H}_2\text{S}$  水平.

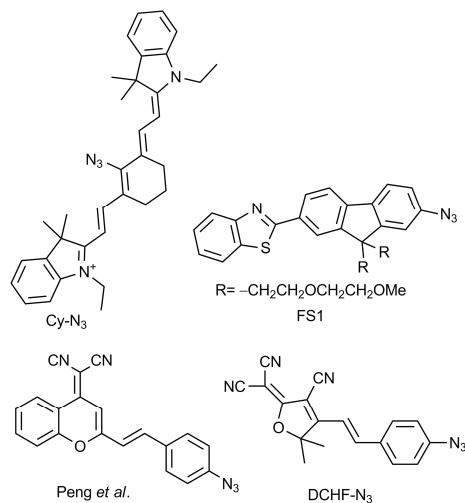
Yu 等<sup>[50]</sup>开发了一系列基于硝基的探针 Probe1-3,探针利用分子内电荷转移(ICT)机理实现了  $\text{H}_2\text{S}$  的比率检测(图 15). Wang 等<sup>[51]</sup>则利用  $\text{H}_2\text{S}$  的还原性,将羟胺-萘酰亚胺还原为氨基-萘酰亚胺,发生弱到强荧光的变化,该探针已经可以检测到亚微摩尔级别的  $\text{H}_2\text{S}$ . Kumar 等<sup>[52]</sup>也报道了一个基于硝基还原反应的探针.



图 14 基于叠氮还原的 H<sub>2</sub>S 荧光探针图 15 基于硝基及胍还原的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

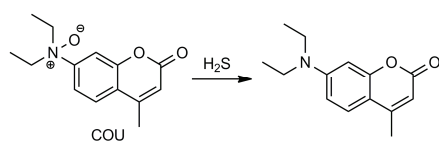
Cy-NO<sub>2</sub> 是近红外荧光探针, 与 H<sub>2</sub>S 反应后荧光量子产率从 0.05 增加至 0.11, 可用于检测水溶液及 RAW264.7 细胞的 H<sub>2</sub>S 浓度<sup>[53]</sup>. Zhao 课题组<sup>[54]</sup>制备的探针 RHP-2, 是一种基于萘酰亚胺-硝基结构的比率型荧光探针, 应用 RHP-2 对抑郁模型小鼠海马组织中的内源性 H<sub>2</sub>S 进行了定量检测, 提示内源性 H<sub>2</sub>S 含量和 CBS 表达的降低可能参与了抑郁的病理进程.

近年来, 人们对 H<sub>2</sub>S 的研究延伸至动物体内. 而为了在动物体内进行荧光成像与定量检测, 探针需具有较长的激发、发射波长, 或双光子特性, 以实现穿透组织的信号接收及发射. Han 等<sup>[55]</sup>报道了近红外比率型 H<sub>2</sub>S 探针 Cy-N<sub>3</sub>, 在与 H<sub>2</sub>S 反应前后发射波长有 40 nm 的红移变化, 该探针可用于 RAW264.7 巨噬细胞内源性 H<sub>2</sub>S 的检测, 通过复染技术发现 Cy-N<sub>3</sub> 主要位于细胞质. Cho 等<sup>[56]</sup>开发了第一个双光子 H<sub>2</sub>S 探针 FS1, 还可实现大鼠海马组织中 H<sub>2</sub>S 的荧光成像 (图 16). Peng 等<sup>[57]</sup>开发了一种近红外双光子荧光探针, 以苯并吡喃为母核, 可对深层组织的 H<sub>2</sub>S 进行成像, 同时光毒性较低, 首次实现了小鼠活体内 H<sub>2</sub>S 的荧光成像. Cui 等<sup>[58]</sup>将苯并吡喃衍生物替换为三氰基二氢

图 16 具有双光子及近红外特征的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

咪喃合成了发射红色荧光的探针 DCDHF-N<sub>3</sub>.

Tang 等<sup>[59]</sup>设计了一个基于 H<sub>2</sub>S 还原氮氧键的香豆素衍生物 COU (图 17), N 原子由于带正电荷使得整个化合物呈现弱荧光. 当被 H<sub>2</sub>S 还原后, 二乙胺基的强推电能力使得整个化合物呈现高亮度.

图 17 基于氧氮键还原的  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针

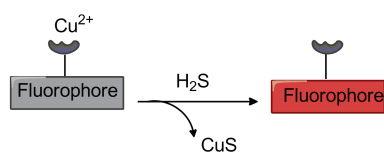
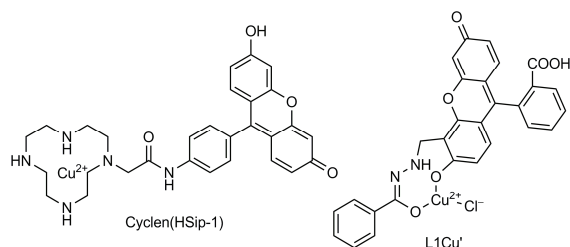
#### 4.2 基于金属硫化物生成的 $\text{H}_2\text{S}$ 荧光探针

在荧光团引入一个  $\text{Cu}^{2+}$  络合基团后, 顺磁性的  $\text{Cu}^{2+}$  金属中心可以有效淬灭荧光团的荧光. 由于硫离子对  $\text{Cu}^{2+}$  有强亲和力, 当加入  $\text{H}_2\text{S}$  后, 硫离子结合  $\text{Cu}^{2+}$  形成  $\text{CuS}$  沉淀, 而荧光分子的荧光重新恢复(图 18).

Nagano 等<sup>[60]</sup>用 cyclen 连接到荧光团上作为  $\text{Cu}^{2+}$  的配体, 开发了 HSip-1. Cyclen 螯合  $\text{Cu}^{2+}$  探针分子被淬灭, 随着  $\text{H}_2\text{S}$  加入, 分子的荧光大幅增强. HSip-1 在体外实验中能够迅速探测到低至  $10 \mu\text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{S}$ . Zeng 等<sup>[61]</sup>先后合成以 8-羟基喹啉为配体的一代探针 L1Cu 和二代探针 L1Cu' (图 19), 后者有较低的检测限 ( $1.7 \mu\text{mol/L}$ ), 与  $\text{H}_2\text{S}$  反应后, 荧光强度增加 25~30 倍, 但对硫醇选择性一般.

#### 4.3 基于亲核反应的 $\text{H}_2\text{S}$ 荧光探针

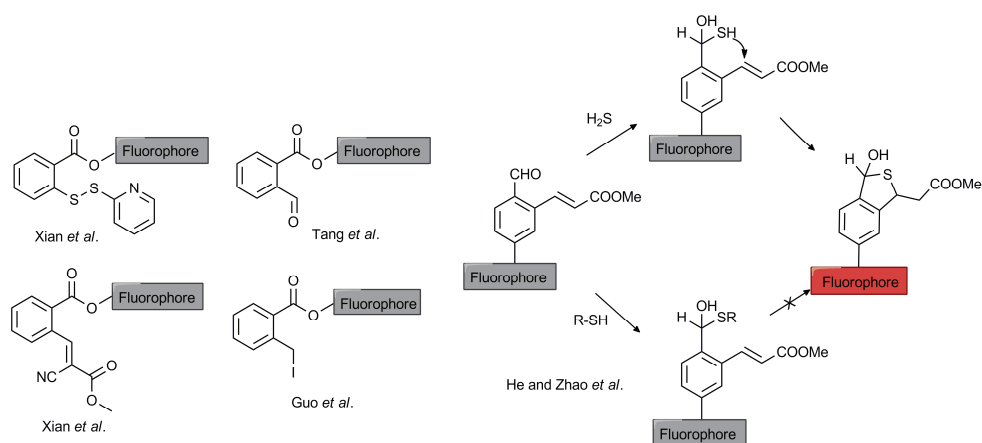
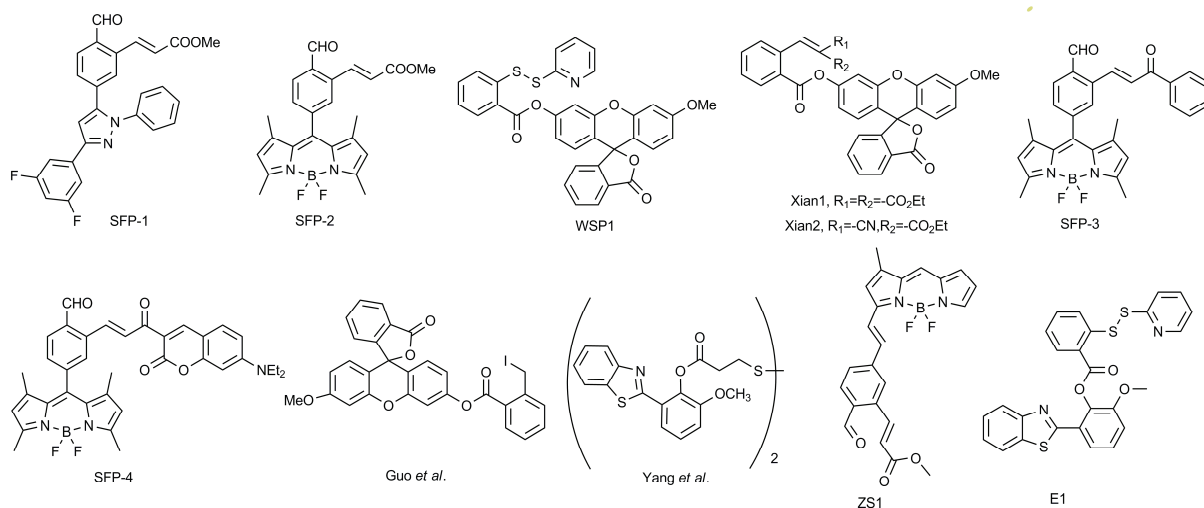
在生理条件下,  $\text{H}_2\text{S}$  的主要存在形式为  $\text{HS}^-$ ,  $\text{HS}^-$  的亲核性比常见阴离子 ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{OH}^-$ ) 的亲核性要强很多.  $\text{H}_2\text{S}$  的  $\text{pK}_a$  约为 7.0, 而其他硫化化合物的  $\text{pK}_a$  为 7.0~8.5, 这说明在生理条件下  $\text{H}_2\text{S}$  比 Cys、GSH 的巯基具有更强的亲核性. 因此, 可以利用  $\text{H}_2\text{S}$  的亲核性

图 18 基于硫-金属配位的  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针设计原理图 19 基于硫-金属配位的  $\text{H}_2\text{S}$  探针

将  $\text{HS}^-$  与其他阴离子和巯基化合物区分开. 基于亲核反应的探针主要分为两类: 一类是发生二次亲核取代反应(图 20), 另一类是发生一次亲核取代反应.

2011 年, He 课题组<sup>[62,63]</sup>报道了两个  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针 SFP-1 和 SFP-2 (图 21). 探针的  $\text{H}_2\text{S}$  识别基团是  $\alpha, \beta$ -不饱和丙烯酸甲酯及邻位苯甲醛, 醛基可以很快地与  $\text{H}_2\text{S}$  反应生成半硫缩醛中间体, 该中间体暴露的亲核性巯基再继续与  $\alpha, \beta$ -不饱和丙烯酸甲酯发生 Michael 加成反应而生成五元环的硫缩醛结构. 同时, 这种与  $\text{H}_2\text{S}$  发生的反应阻碍了光诱导电子转移 (d-PET), 从而引发荧光. 然而, 当其他硫化化合物与该识别基团反应时, 能生成半硫缩醛中间体, 却不能进行接下来的 Michael 加成反应, 形成的中间体也会分解为原来的探针. SFP-1 和 SFP-2 可实现内源性和外源性  $\text{H}_2\text{S}$  的细胞荧光成像. 尽管 SFP-1 和 SFP-2 可以选择性检验  $\text{H}_2\text{S}$ , 但是探针与  $\text{H}_2\text{S}$  的反应时间较长. 2012 年, Zhao 课题组<sup>[62]</sup>在 SFP-1 和 SFP-2 的基础上开发了快速响应的荧光探针 SFP-3 (图 21), 将丙烯酸酯的酯基替换为吸电子的苯基, 同时利用酮基来调节电子密度, 在保留对  $\text{H}_2\text{S}$  选择性的同时, 探针具有更强的反应活性. 在小牛血清体系中, SFP-3 只需 3 min 就可以反应完全并成功地测定了小鼠血浆及脑组织中  $\text{H}_2\text{S}$  的含量. 之后, 该课题组<sup>[64]</sup>又用香豆素替换 SFP-3 上的苯基合成了探针 SFP-4, 反应时间和检测限与 SFP-3 类似, 可用于小鼠血浆和细胞内  $\text{H}_2\text{S}$  检测. Hu<sup>[65]</sup>在 SFP-1 和 SFP-2 的基础上设计合成了基于 ICT 原理的探针 ZS1, 该探针具有较宽的检测范围和良好的线性, 可用于检测 RAW264.7 细胞中内源性  $\text{H}_2\text{S}$ .

Xian 等<sup>[66]</sup>报道了一种基于荧光素的探针 WSP1,  $\text{H}_2\text{S}$  使二硫键断裂, 暴露的巯基与酯键亲核取代, 释放出荧光物质; 而其他硫化化合物不能进行第二步的亲核取代, 无法释放出荧光物质. WSP1 与  $\text{H}_2\text{S}$  反应需要 1 h, 最低检测限为  $2.5 \mu\text{mol/L}$ , 该探针也被应用于 COS7 细胞中  $\text{H}_2\text{S}$  的荧光成像. 之后, 该课题组<sup>[67]</sup>又报道了两个探针 Xian1 和 Xian2, 同样是以荧光素为母体, 但用共轭的迈克尔受体代替二硫键. 反应时间缩短为 30 min, 最低检测限降低至  $1 \mu\text{mol/L}$ . Qian 等<sup>[68]</sup>开发了基于激发态分子内质子转移原理 (ESIPT) 的探针 E1, E1 与 WSP1 识别原理相同, E1 反应速度较快, 2 min 即可完成, 与  $\text{H}_2\text{S}$  反应后荧光强度增强了 30 倍.

图 20 基于亲核反应设计的  $\text{H}_2\text{S}$  探针架构及反应原理图 21 基于亲核反应的  $\text{H}_2\text{S}$  荧光探针

如上所述, He、Xian 及 Zhao 课题组都是通过  $\text{H}_2\text{S}$  的亲核-环化级联反应选择性地识别  $\text{H}_2\text{S}$ . 但生物体内的巯基化合物虽然不引起探针的荧光变化, 仍然能够与一部分探针发生反应而消耗一部分探针, 进而导致检测的准确性降低. Guo 等<sup>[69]</sup>为了克服这个问题合成了以 2-(碘甲基)苯甲酸酯为  $\text{H}_2\text{S}$  识别基团的探针. 通过碘甲基的引入, 降低亲电性, 使巯基化合物不能与探针发生亲核反应, 提高了检测的准确性, 最低检测限为  $0.1 \mu\text{mol/L}$ , 可用于 COS7 细胞中  $\text{H}_2\text{S}$  的荧光成像. Yang 等<sup>[70]</sup>之后制备了一个以苯并噻唑衍生物为荧光母核的比率型探针, 该探针与  $\text{H}_2\text{S}$  反应 25 min 可达到最大的荧光强度, 反应前后荧光发射波长发生 104 nm 的红移.

同类的亲核反应原理还被应用在间二硝基苯醚修饰的探针中. Lin 等<sup>[71]</sup>合成了近红外探针 NIR- $\text{H}_2\text{S}$  (图 22). 该探针  $\text{H}_2\text{S}$  反应 10 min 可完成, 最低检测限为  $5 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ , 可用于细胞内  $\text{H}_2\text{S}$  检测. NI-NHS 是双光子荧光探针, 在小牛血清中反应速率较快且具有良好的线性, 可用于定量检测生物样品中的  $\text{H}_2\text{S}$ <sup>[72]</sup>. Feng 等<sup>[73]</sup>和 Gil 等<sup>[74]</sup>等均开发了可用于生物体系(细胞、血清)及水质中  $\text{H}_2\text{S}$  检测的探针.

类似的亲核反应还能发生在 NBD 上. Xi 等<sup>[75]</sup>首次发现  $\text{H}_2\text{S}$  可亲核进攻 NBD4 位的碳原子, 并利用该原理设计了基于 NBD-香豆素的 FRET 荧光探针(图 23), 该探针具有良好的选择性及反应性. 随后, Yi 等<sup>[76]</sup>利用该原理开发了基于荧光素的开启型探针,



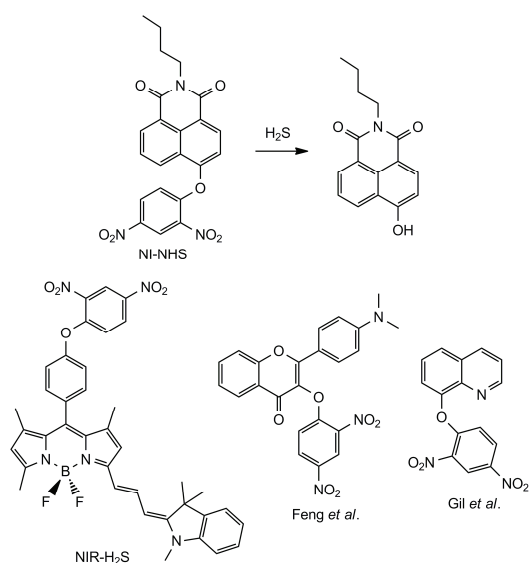


图 22 基于二硝基苯醚亲核反应的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

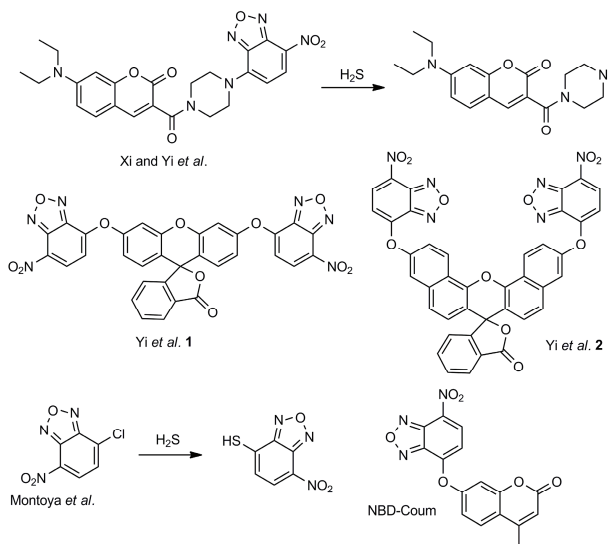


图 23 基于 NBD 亲核反应的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

检测限可达到 0.4 μmol/L. 类似的报道还有 Pluth 课题组发表的探针<sup>[77]</sup>及 NBD-Coum<sup>[78]</sup>. 这类探针均具有较好的选择性及较高的检测限.

由于 H<sub>2</sub>S 的强亲核性, 它还能亲核进攻某些共轭基团中的亲电碳原子, 如图 24 中的 CouMc<sup>[79]</sup>及 Guo 课题组<sup>[80]</sup>开发的探针. 其中, 前者进攻的位点为氮正离子邻位, 并且在反应后在氢离子的条件加还原成反应物, 实现循环. 其对 H<sub>2</sub>S 的检测限约为 1 μmol/L. 后者对硫化氢具有极快的响应速度(<10 s)及高选择性(1200 倍).

#### 4.4 亚细胞器靶向的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

H<sub>2</sub>S 合成酶 CBS 和 CSE 主要分布在细胞质中, CAT 和 3-MST 分布在胞质和线粒体中. CAT/3-MST 体系主要在线粒体中产生 H<sub>2</sub>S. 因此, 研发亚细胞器靶向的 H<sub>2</sub>S 荧光探针, 对阐述 H<sub>2</sub>S 在细胞中的作用有着极大的帮助. CouMC<sup>[79]</sup>是线粒体靶向的比率型 H<sub>2</sub>S 荧光探针(图 25), 由香豆素与半菁花素构建而成, 探针反应速度很快(30 s), 可对 MCF-7 细胞线粒体内的 H<sub>2</sub>S 进行实时成像. SHS-M2<sup>[81]</sup>是线粒体靶向的双光子 H<sub>2</sub>S 荧光探针, 能实现星形胶质细胞和脑组织中的 H<sub>2</sub>S 荧光比率成像. 该探针具有毒性低、选择性好的

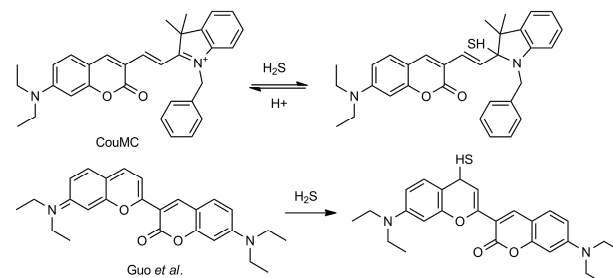


图 24 基于其他亲核反应的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

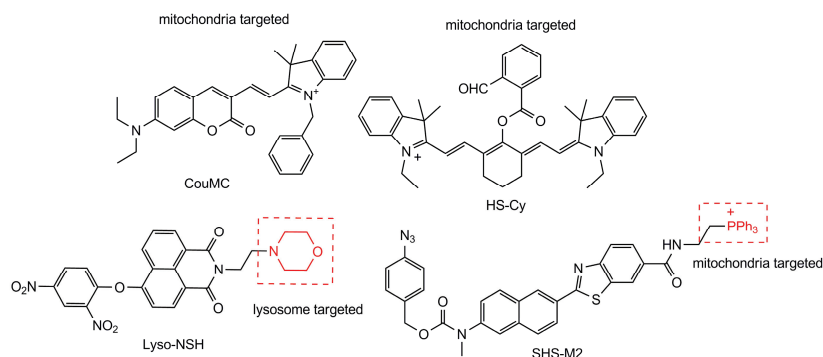


图 25 亚细胞器靶向的 H<sub>2</sub>S 荧光探针

表3 H<sub>2</sub>S 探针总结

探针	荧光团	$\lambda_{\text{ex}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	检测限	响应幅度(倍)	响应时间	输出类型
基于还原反应的 H <sub>2</sub> S 荧光探针							
SF1 <sup>[41]</sup>	BODIPY	490	525	5~10 $\mu\text{mol/L}$	7	1 h	开启型
SF2 <sup>[41]</sup>	BODIPY	492	525	5~10 $\mu\text{mol/L}$	9	1 h	开启型
SF4 <sup>[40]</sup>	BODIPY	496	517	125 mol/L	40	20 min <sup>a)</sup>	开启型
SF5-AM <sup>[40]</sup>	BODIPY	498	521	250 mol/L	4	20 min <sup>a)</sup>	开启型
SF7-AM <sup>[40]</sup>	BODIPY	498	526	500 mol/L	20	20 min <sup>a)</sup>	开启型
DNS-Az <sup>[42]</sup>	丹酰	340	535	32 $\mu\text{mol/L}$	40	10 s	开启型
HSN2 <sup>[43]</sup>	NAP	432	542	1~5 $\mu\text{mol/L}$	60	45 min	开启型
AzMB-couMarin <sup>[44]</sup>	香豆素	365	450	10 $\mu\text{mol/L}$	–	60 min	开启型
Talukdar <i>et al.</i> <sup>[45]</sup>	BODIPY	365	520	259 mol/L	28	30 s	比率型
PI-N <sub>3</sub> <sup>[46]</sup>	其他	350	423	879 mol/L	20	3 min	开启型
NBD-N <sub>3</sub> <sup>[48]</sup>	NBD	396/468	550	680 mol/L	16	5 min	比率型
Li-1 <sup>[47]</sup>	香豆素	390	483	100 $\mu\text{mol/L}$	4.5	1 h	开启型
Li-2 <sup>[47]</sup>	香豆素	380	515	100 $\mu\text{mol/L}$	40	1 h	开启型
NAP-1 <sup>[49]</sup>	NAP	430/368	474/541	110 mol/L	88	20 min	比率比率型
Yu <i>et al.</i> <sup>[50]</sup>	香豆素	397	482/602	2.5 $\mu\text{mol/L}$	4750	45 min	比率比率型
Wang <i>et al.</i> <sup>[51]</sup>	NAP	440	544	0.5 $\mu\text{mol/L}$	–	1 h <sup>a)</sup>	开启型
Kumar <i>et al.</i> <sup>[52]</sup>	其他	320	462	1 $\mu\text{mol/L}$	–	20 min	开启型
Cy-NO <sub>2</sub> <sup>[53]</sup>	花青素	755	809	–	12.7	60 min	开启型
RHP-2 <sup>[54]</sup>	NAP	365	467/532	270 mol/L	27	40 min	比率型
Cy-N <sub>3</sub> <sup>[55]</sup>	花青素	625	710/750	0.08 $\mu\text{mol/L}$	–	20 min	比率型
Peng <i>et al.</i> <sup>[57]</sup>	苯并吡喃	520	670	3.05 $\mu\text{mol/L}$	354	1 h <sup>a)</sup>	近红外双光子 开启型
DCDHF-N <sub>3</sub> <sup>[58]</sup>	DCDHF	574	619	50 $\mu\text{mol/L}$	55	60 min	比率开启型
FS1 <sup>[56]</sup>	其他	363	548	5~10 $\mu\text{mol/L}$	21	2 h <sup>a)</sup>	双光子开启型
COU <sup>[59]</sup>	香豆素	366	455	0.2 $\mu\text{mol/L}$	10	60 min	开启型
基于金属硫化物生成的 H <sub>2</sub> S 荧光探针							
HSip-1 <sup>[60]</sup>	荧光素	491	516	10 $\mu\text{mol/L}$	50	2 min <sup>a)</sup>	开启型
LiCu <sup>[61]</sup>	荧光素	495	534	5 $\mu\text{mol/L}$	–	30 min	开启型
LiCu <sup>+</sup> <sup>[61]</sup>	荧光素	494	523	1.7 $\mu\text{mol/L}$	–	30 min	开启型
基于亲核反应的 H <sub>2</sub> S 荧光探针							
SFP-1 <sup>[24]</sup>	BODIPY	300	391	10 $\mu\text{mol/L}$	>10	120 min	开启型
SFP-2 <sup>[24]</sup>	BODIPY	465	510	5 $\mu\text{mol/L}$	>13	20 min	开启型
SFP-3 <sup>[25]</sup>	BODIPY	500	515	20 $\mu\text{mol/L}$	>70	3 min	开启型
SFP-4 <sup>[64]</sup>	BODIPY	458	512	5.7 $\mu\text{mol/L}$	>26	25 min	开启型
ZS1 <sup>[40]</sup>	BODIPY	535	561	2.5 $\mu\text{mol/L}$	62	50 min	开启型
WSP1 <sup>[66]</sup>	荧光素	476	516	60 mol/L	36	1 h	开启型
Xian1 <sup>[67]</sup>	荧光素	476	513	1 $\mu\text{mol/L}$	11	30 min	开启型
Xian2 <sup>[67]</sup>	荧光素	476	513	1 $\mu\text{mol/L}$	160	30 min	开启型
E1 <sup>[68]</sup>	HBT	295	487/356	0.12 $\mu\text{mol/L}$	30	2 min	开启型
Guo <i>et al.</i> <sup>[69]</sup>	荧光素	455	517	0.1 $\mu\text{mol/L}$	50	30 min <sup>a)</sup>	开启型
Yang <i>et al.</i> <sup>[70]</sup>	HBT	310	478	0.068 $\mu\text{mol/L}$	140	25 min	开启型
NI-NHS	NAP	450	550	0.18 $\mu\text{mol/L}$	37	20 min	开启型
NIR-H2S <sup>[71]</sup>	BODIPY	650	708	50 mol/L	18	10 min <sup>a)</sup>	开启型
Feng <i>et al.</i> <sup>[73]</sup>	黄酮	417	538	0.13 $\mu\text{mol/L}$	660	100 min <sup>a)</sup>	开启型
Gil <i>et al.</i> <sup>[74]</sup>	喹啉	450	514	60 mol/L	345	50 min	开启型
Xi and Yi <i>et al.</i> <sup>[75]</sup>	香豆素	405	480	9 $\mu\text{mol/L}$	45	45 min	开启型
Yi <i>et al.</i> 1 <sup>[76]</sup>	荧光素	490	514	0.4 $\mu\text{mol/L}$	>1000	35 min	开启型
Yi <i>et al.</i> 2 <sup>[76]</sup>	荧光素	600	662	16 $\mu\text{mol/L}$	77	–	开启型
NBD-coum <sup>[78]</sup>	香豆素	400	449	–	–	–	比率型
Guo <i>et al.</i> <sup>[80]</sup>	香豆素	450	485	0.14 $\mu\text{mol/L}$	1200	<10 s	比率型

续表 3

探针	荧光团	$\lambda_{\text{ex}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	检测限	响应幅度(倍)	响应时间	输出类型
亚细胞器靶向的 H <sub>2</sub> S 荧光探针							
CouMC <sup>[79]</sup>	香豆素	510	652	1 $\mu\text{mol/L}$	-	30 s	比率型
HS-Cy <sup>[82]</sup>	花青素	625	780	5.0~10 $\mu\text{mol/L}$	2500	20 min	比率型
SHS-M2 <sup>[81]</sup>	其他	420	500	-	-	-	双光子/比率型
Lyso-NHS <sup>[83]</sup>	NAP	450	555	0.48 $\mu\text{mol/L}$	42	20 min <sup>a)</sup>	开启型

a) 根据文中数据估算

优点. 利用该探针, 证实了星形胶质细胞中 H<sub>2</sub>S 水平的降低与帕金森病的病理过程有关. HS-Cy<sup>[82]</sup>是基于花菁的近红外 H<sub>2</sub>S 比率荧光探针, 该探针响应速度快、灵敏度高, 具有线粒体靶向性, 并成功应用于人肺癌 A549 细胞内源性 H<sub>2</sub>S 的荧光比率成像. Cui 等<sup>[83]</sup>报道了 Lyso-NHS, 引入 2-氨基乙基吗啉基团作为溶酶体靶向基团. Lyso-NHS 在 pH 2.0~8.2 之间荧光不受影响, 说明其可在溶酶体环境(pH 4.0~6.0)下进行 H<sub>2</sub>S 检测. 该探针可靶向测定细胞中溶酶体产生的 H<sub>2</sub>S.

H<sub>2</sub>S 探针的研究在近年来得到井喷式发展, 大量的探针被报道(表 3). 然而活体成像的例子尚少, 特别是把探针应用于一些 H<sub>2</sub>S 可能具有重要作用的机体部分(如大脑、肠道)的机制研究尚未被报道. H<sub>2</sub>S 产生机制复杂, 如何利用荧光探针来进一步探索 H<sub>2</sub>S 的生理功能, 是接下来要面临的重要挑战.

## 5 展望

气体信号分子在生命体系中占据重要地位, 参与了各种各样的生理功能调控, 同时也能反映多种机体功能变化. 它们的重要性, 体现在医药、食物、生产、农业、环境等各个方面, 与我们的生活息息相关. 人们对气体信号分子的了解正在进一步深入. 其中, 对气体信号分子的高灵敏检测工具和方法的发展, 不但可以帮助我们进一步了解气体信号分子的功能, 更能帮助我们掌握其特性, 把握其与生命体的关系. 荧光小分子探针是生命体系中使用最广泛的检测工具, 在人们了解生命规律、改善生活条件方面起了重要的作用. 发展气体分子的小分子荧光探针将是当下及未来的前沿研究领域. 我们相信, 在不久的将来, 气体信号分子的小分子荧光探针将得到快速发展, 为研究气体信号分子的功能和调控提供有力的工具.

**致谢** 本工作得到中国博士后科学基金(2014M550563)、国家高技术研究发展计划(2014AA020512)、国家自然科学基金(31200607)、深圳市未来产业专项资金(JCYJ20140627145302109, CXZZ20140419131807788)及深圳市南山区技术研发和创意设计项目专项资金(KC2014JSCX0027A)资助, 特此一并致谢.

## 参考文献

- 1 Koshland DE. The molecule of the year. *Science*, 1992, 258: 1861
- 2 Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*, 2007, 87: 315-424
- 3 Knott AB, Bossy-Wetzel E. Nitric oxide in health and disease of the nervous system. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11: 541-554
- 4 Roy S, Baiker A. NO<sub>x</sub> storage-reduction catalysis: from mechanism and materials properties to storage-reduction performance. *Chem Rev*, 2009, 109: 4054-4091
- 5 Bryan NS, Grisham MB. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43: 645-657
- 6 Nagano T, Yoshimura T. Bioimaging of nitric oxide. *Chem Rev*, 2002, 102: 1235-1270
- 7 Miles AM, Wink DA, Cook JC, Grisham MB. Determination of nitric oxide using fluorescence spectroscopy. In: Lester P, Ed. *Methods in Enzymology*. San Diego: Academic Press, 1996. 105-120
- 8 Kojima H, Sakurai K, Kikuchi K, Kawahara S, Kirino Y, Nagoshi H, Hirata Y, Nagano T. Development of a fluorescent indicator for nitric oxide based on the fluorescein chromophore. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1998, 46: 373-375
- 9 Kojima H, Urano Y, Kikuchi K, Higuchi T, Hirata Y, Nagano T. Fluorescent indicators for imaging nitric oxide production. *Angew Chem Int Ed*, 1999, 38: 3209-3212



- 10 Kojima H, Hirotani M, Urano Y, Kikuchi K, Higuchi T, Nagano T. Fluorescent indicators for nitric oxide based on rhodamine chromophore. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41: 69–72
- 11 Kojima H, Hirotani M, Nakatsubo N, Kikuchi K, Urano Y, Higuchi T, Hirata Y, Nagano T. Bioimaging of nitric oxide with fluorescent indicators based on the rhodamine chromophore. *Anal Chem*, 2001, 73: 1967–1973
- 12 Gabe Y, Urano Y, Kikuchi K, Kojima H, Nagano T. Highly sensitive fluorescence probes for nitric oxide based on boron dipyrromethene chromophore-rational design of potentially useful bioimaging fluorescence probe. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 3357–3367
- 13 Vegesna GK, Sripathi SR, Zhang J, Zhu S, He W, Luo FT, Jahng WJ, Frost M, Liu H. Highly water-soluble BODIPY-based fluorescent probe for sensitive and selective detection of nitric oxide in living cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5: 4107–4112
- 14 Zheng H, Shang GO, Yang SY, Gao X, Xu JG. Fluorogenic and chromogenic rhodamine spirolactam based probe for nitric oxide by spiro ring opening reaction. *Org Lett*, 2008, 10: 2357–2360
- 15 Yu H, Zhang X, Xiao Y, Zou W, Wang L, Jin L. Targetable fluorescent probe for monitoring exogenous and endogenous NO in mitochondria of living cells. *Anal Chem*, 2013, 85: 7076–7084
- 16 Lin LY, Lin XY, Lin F, Wong KT. A new spirobifluorene-bridged bipolar system for a nitric oxide turn-on fluorescent probe. *Org Lett*, 2011, 13: 2216–2219
- 17 Dong X, Heo CH, Chen S, Kim HM, Liu Z. Quinoline-based two-photon fluorescent probe for nitric oxide in live cells and tissues. *Anal Chem*, 2014, 86: 308–311
- 18 Yang Y, Seidlits SK, Adams MM, Lynch VM, Schmidt CE, Anslyn EV, Shear JB. A highly selective low-background fluorescent imaging agent for nitric oxide. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 13114–13116
- 19 Lv X, Wang Y, Zhang S, Liu Y, Zhang J, Guo W. A specific fluorescent probe for NO based on a new NO-binding group. *Chem Commun*, 2014, 50: 7499–7502
- 20 Shiue TW, Chen YH, Wu CM, Singh G, Chen HY, Hung CH, Liaw WF, Wang YM. Nitric oxide turn-on fluorescent probe based on deamination of aromatic primary monoamines. *Inorg Chem*, 2012, 51: 5400–5408
- 21 Ma S, Fang DC, Ning B, Li M, He L, Gong B. The rational design of a highly sensitive and selective fluorogenic probe for detecting nitric oxide. *Chem Commun*, 2014, 50: 6475–6478
- 22 Duppe PM, Talbierski PM, Hornig FS, Rauen U, Korth HG, Wille T, Boese R, Omlor T, de Groot H, Sustmann R. Pyrene-based fluorescent nitric oxide cheletropic traps (FNOCTs) for the detection of nitric oxide in cell cultures and tissues. *Chem Eur J*, 2010, 16: 11121–11132
- 23 Meineke P, Rauen U, de Groot H, Korth HG, Sustmann R. Nitric oxide detection and visualization in biological systems. Applications of the FNOCT method. *Biol Chem*, 2000, 381: 575–582
- 24 Lim MH, Lippard SJ. Metal-based turn-on fluorescent probes for sensing nitric oxide. *Acc Chem Res*, 2007, 40: 41–51
- 25 Soh N, Imato T, Kawamura K, Maeda M, Katayama Y. Ratiometric direct detection of nitric oxide based on a novel signal-switching mechanism. *Chem Commun*, 2002: 2650–2651
- 26 Lim MH, Lippard SJ. Copper complexes for fluorescence-based NO detection in aqueous solution. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12170–12171
- 27 Alam R, Mistri T, Mondal P, Das D, Mandal SK, Khuda-Bukhsh AR, Ali M. A novel copper(II) complex as a nitric oxide turn-on fluorosensor: intracellular applications and DFT calculation. *Dalton Trans*, 2014, 43: 2566–2576
- 28 Lim MH, Xu D, Lippard SJ. Visualization of nitric oxide in living cells by a copper-based fluorescent probe. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 375–380
- 29 McQuade LE, Lippard SJ. Fluorescence-based nitric oxide sensing by Cu(II) complexes that can be trapped in living cells. *Inorg Chem*, 2010, 49: 7464–7471
- 30 Marletta MA. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*, 1994, 78: 927–930
- 31 Sun YQ, Liu J, Zhang H, Huo Y, Lv X, Shi Y, Guo W. A mitochondria-targetable fluorescent probe for dual-channel NO imaging assisted by intracellular cysteine and glutathione. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 12520–12523
- 32 Yu H, Xiao Y, Jin L. A lysosome-targetable and two-photon fluorescent probe for monitoring endogenous and exogenous nitric oxide in living cells. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 17486–17489
- 33 Michel BW, Lippert AR, Chang CJ. A reaction-based fluorescent probe for selective imaging of carbon monoxide in living cells using a palladium-mediated carbonylation. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 15668–15671
- 34 Zheng K, Lin W, Tan L, Chen H, Cui H. A unique carbazole-coumarin fused two-photon platform: development of a robust two-photon fluorescent probe for imaging carbon monoxide in living tissues. *Chem Sci*, 2014, 5: 3439–3448
- 35 Moragues ME, Toscani A, Sancenon F, Martinez-Manez R, White AJ, Wilton-Ely JD. A chromo-fluorogenic synthetic “canary” for CO

- detection based on a pyrenylvinyl ruthenium(II) complex. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 11930–11933
- 36 Singh S, Banerjee R. PLP-dependent H<sub>2</sub>S biogenesis. *BBA Protein Proteomic*, 2011, 1814: 1518–1527
- 37 Singh S, Padovani D, Leslie RA, Chiku T, Banerjee R. Relative contributions of cystathionine beta-synthase and gamma-cystathionase to H<sub>2</sub>S biogenesis via alternative *trans*-sulfuration reactions. *J Biol Chem*, 2009, 284: 22457–22466
- 38 Paul BD, Snyder SH. H<sub>2</sub>S signalling through protein sulfhydration and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 499–507
- 39 Lin VS, Chen W, Xian M, Chang CJ. Chemical probes for molecular imaging and detection of hydrogen sulfide and reactive sulfur species in biological systems. *Chem Soc Rev*, 2015, 44: 4596–4618
- 40 Lippert AR. Designing reaction-based fluorescent probes for selective hydrogen sulfide detection. *J Inorg Biochem*, 2014, 133: 136–142
- 41 Lippert AR, New EJ, Chang CJ. Reaction-based fluorescent probes for selective imaging of hydrogen sulfide in living cells. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 10078–10080
- 42 Peng H, Cheng Y, Dai C, King AL, Predmore BL, Lefer DJ, Wang B. A fluorescent probe for fast and quantitative detection of hydrogen sulfide in blood. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 9672–9675
- 43 Montoya LA, Pluth MD. Selective turn-on fluorescent probes for imaging hydrogen sulfide in living cells. *Chem Commun*, 2012, 48: 4767–4769
- 44 Wu Z, Li Z, Yang L, Han J, Han S. Fluorogenic detection of hydrogen sulfide via reductive unmasking of *o*-azidomethylbenzoyl-coumarin conjugate. *Chem Commun*, 2012, 48: 10120–10122
- 45 Saha T, Kand D, Talukdar P. A colorimetric and fluorometric BODIPY probe for rapid, selective detection of H<sub>2</sub>S and its application in live cell imaging. *Org Biomol Chem*, 2013, 11: 8166–8170
- 46 Zheng K, Lin W, Tan L. A phenanthroimidazole-based fluorescent chemosensor for imaging hydrogen sulfide in living cells. *Org Biomol Chem*, 2012, 10: 9683–9688
- 47 Li W, Sun W, Yu X, Du L, Li M. Coumarin-based fluorescent probes for H<sub>2</sub>S detection. *J Fluoresc*, 2013, 23: 181–186
- 48 Zhou G, Wang H, Ma Y, Chen X. An NBD fluorophore-based colorimetric and fluorescent chemosensor for hydrogen sulfide and its application for bioimaging. *Tetrahedron*, 2013, 69: 867–870
- 49 Zhang L, Li S, Hong M, Xu Y, Wang S, Liu Y, Qian Y, Zhao J. A colorimetric and ratiometric fluorescent probe for the imaging of endogenous hydrogen sulphide in living cells and sulphide determination in mouse hippocampus. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 5115–5125
- 50 Wu MY, Li K, Hou JT, Huang Z, Yu XQ. A selective colorimetric and ratiometric fluorescent probe for hydrogen sulfide. *Org Biomol Chem*, 2012, 10: 8342–8347
- 51 Xuan W, Pan R, Cao Y, Liu K, Wang W. A fluorescent probe capable of detecting H<sub>2</sub>S at submicromolar concentrations in cells. *Chem Commun*, 2012, 48: 10669–10671
- 52 Reja SI, Kumar N, Sachdeva R, Bhalla V, Kumar M. d-PET coupled ESIPT phenomenon for fluorescent turn-on detection of hydrogen sulfide. *RSC Adv*, 2013, 3: 17770–17774
- 53 Wang R, Yu F, Chen L, Chen H, Wang L, Zhang W. A highly selective turn-on near-infrared fluorescent probe for hydrogen sulfide detection and imaging in living cells. *Chem Commun*, 2012, 48: 11757–11759
- 54 Zhang L, Meng WQ, Lu L, Xue YS, Li C, Zou F, Liu Y, Zhao J. Selective detection of endogenous H<sub>2</sub>S in living cells and the mouse hippocampus using a ratiometric fluorescent probe. *Sci Rep*, 2014, 4: 5870–5878
- 55 Yu F, Li P, Song P, Wang B, Zhao J, Han K. An ICT-based strategy to a colorimetric and ratiometric fluorescence probe for hydrogen sulfide in living cells. *Chem Commun*, 2012, 48: 2852–2854
- 56 Das SK, Lim CS, Yang SY, Han JH, Cho BR. A small molecule two-photon probe for hydrogen sulfide in live tissues. *Chem Commun*, 2012, 48: 8395–8397
- 57 Sun W, Fan J, Hu C, Cao J, Zhang H, Xiong X, Wang J, Cui S, Sun S, Peng X. A two-photon fluorescent probe with near-infrared emission for hydrogen sulfide imaging in biosystems. *Chem Commun*, 2013, 49: 3890–3892
- 58 Chen T, Zheng Y, Xu Z, Zhao M, Xu Y, Cui J. A red emission fluorescent probe for hydrogen sulfide and its application in living cells imaging. *Tetrahedron Lett*, 2013, 54: 2980–2982
- 59 Wu Z, Feng Y, Geng B, Liu J, Tang X. Fluorogenic sensing of H<sub>2</sub>S in blood and living cells via reduction of aromatic dialkylamino *N*-oxide. *RSC Adv*, 2014, 4: 30398–30401
- 60 Sasakura K, Hanaoka K, Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Komatsu T, Ueno T, Terai T, Kimura H, Nagano T. Development of a highly selective fluorescence probe for hydrogen sulfide. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 18003–18005
- 61 Hou F, Huang L, Xi P, Cheng J, Zhao X, Xie G, Shi Y, Cheng F, Yao X, Bai D, Zeng Z. A retrievable and highly selective fluorescent probe for monitoring sulfide and imaging in living cells. *Inorg Chem*, 2012, 51: 2454–2460

- 62 Qian Y, Zhang L, Ding S, Deng X, He C, Zheng XE, Zhu HL, Zhao J. A fluorescent probe for rapid detection of hydrogen sulfide in blood plasma and brain tissues in mice. *Chem Sci*, 2012, 3: 2920–2923
- 63 Qian Y, Karpus J, Kabil O, Zhang SY, Zhu HL, Banerjee R, Zhao J, He C. Selective fluorescent probes for live-cell monitoring of sulphide. *Nat Commun*, 2011, 2: 495
- 64 Qian Y, Yang BY, Shen Y, Du QR, Lin L, Lin J, Zhu HL. A BODIPY-coumarin-based selective fluorescent probe for rapidly detecting hydrogen sulfide in blood plasma and living cells. *Sensor Actuat B-Chem*, 2013, 182: 498–503
- 65 Li X, Zhang S, Cao J, Xie N, Liu T, Yang B, He Q, Hu Y. An ICT-based fluorescent switch-on probe for hydrogen sulfide in living cells. *Chem Commun*, 2013, 49: 8656–8658
- 66 Peng B, Chen W, Liu C, Rosser EW, Pacheco A, Zhao Y, Aguilar HC, Xian M. Fluorescent probes based on nucleophilic substitution-cyclization for hydrogen sulfide detection and bioimaging. *Chem Eur J*, 2014, 20: 1010–1016
- 67 Liu C, Peng B, Li S, Park CM, Whorton AR, Xian M. Reaction based fluorescent probes for hydrogen sulfide. *Org Lett*, 2012, 14: 2184–2187
- 68 Xu Z, Xu L, Zhou J, Xu Y, Zhu W, Qian X. A highly selective fluorescent probe for fast detection of hydrogen sulfide in aqueous solution and living cells. *Chem Commun*, 2012, 48: 10871–10873
- 69 Zhang J, Sun YQ, Liu J, Shi Y, Guo W. A fluorescent probe for the biological signaling molecule H<sub>2</sub>S based on a specific H<sub>2</sub>S trap group. *Chem Commun*, 2013, 49: 11305–11307
- 70 Huang Q, Yang XF, Li H. A ratiometric fluorescent probe for hydrogen sulfide based on an excited-state intramolecular proton transfer mechanism. *Dyes Pigm*, 2013, 99: 871–877
- 71 Cao X, Lin W, Zheng K, He L. A near-infrared fluorescent turn-on probe for fluorescence imaging of hydrogen sulfide in living cells based on thiolysis of dinitrophenyl ether. *Chem Commun*, 2012, 48: 10529–10531
- 72 Liu T, Zhang X, Qiao Q, Zou C, Feng L, Cui J, Xu Z. A two-photon fluorescent probe for imaging hydrogen sulfide in living cells. *Dyes Pigm*, 2013, 99: 537–542
- 73 Liu Y, Feng G. A visible light excitable colorimetric and fluorescent ESIPt probe for rapid and selective detection of hydrogen sulfide. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 438–445
- 74 El Sayed S, Torre Cdl, Santos-Figueroa LE, Perez-Paya E, Martinez-Manez R, Sancenon F, Costero AM, Parra M, Gil S. A new fluorescent “turn-on” chemodosimeter for the detection of hydrogen sulfide in water and living cells. *RSC Adv*, 2013, 3: 25690–25693
- 75 Wei C, Wei L, Xi Z, Yi L. A FRET-based fluorescent probe for imaging H<sub>2</sub>S in living cells. *Tetrahedron Lett*, 2013, 54: 6937–6939
- 76 Wei C, Zhu Q, Liu W, Chen W, Xi Z, Yi L. NBD-based colorimetric and fluorescent turn-on probes for hydrogen sulfide. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 479–485
- 77 Montoya LA, Pearce TF, Hansen RJ, Zakharov LN, Pluth MD. Development of selective colorimetric probes for hydrogen sulfide based on nucleophilic aromatic substitution. *J Org Chem*, 2013, 78: 6550–6557
- 78 Hammers MD, Pluth MD. Ratiometric measurement of hydrogen sulfide and cysteine/homocysteine ratios using a dual-fluorophore fragmentation strategy. *Anal Chem*, 2014, 86: 7135–7140
- 79 Chen Y, Zhu C, Yang Z, Chen J, He Y, Jiao Y, He W, Qiu L, Cen J, Guo Z. A ratiometric fluorescent probe for rapid detection of hydrogen sulfide in mitochondria. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 1688–1691
- 80 Liu J, Sun YQ, Zhang J, Yang T, Cao J, Zhang L, Guo W. A ratiometric fluorescent probe for biological signaling molecule H<sub>2</sub>S: fast response and high selectivity. *Chem Eur J*, 2013, 19: 4717–4722
- 81 Bae SK, Heo CH, Choi DJ, Sen D, Joe EH, Cho BR, Kim HM. A ratiometric two-photon fluorescent probe reveals reduction in mitochondrial H<sub>2</sub>S production in Parkinson’s disease gene knockout astrocytes. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 9915–9923
- 82 Wang X, Sun J, Zhang W, Ma X, Lv J, Tang B. A near-infrared ratiometric fluorescent probe for rapid and highly sensitive imaging of endogenous hydrogen sulfide in living cells. *Chem Sci*, 2013, 4: 2551–2556
- 83 Liu T, Xu Z, Spring DR, Cui J. A lysosome-targetable fluorescent probe for imaging hydrogen sulfide in living cells. *Org Lett*, 2013, 15: 2310–2313

## The small molecule fluorescent probes for gasotransmitters

Yiyong Yan<sup>1</sup>, Ling Zhang<sup>3</sup>, Qian Wu<sup>1</sup>, Mengying Yu<sup>1</sup>, Chao Yang<sup>1</sup>, Zhuwen Chen<sup>1</sup>, Jian Zhang<sup>1</sup>, Jingyi Zhao<sup>1</sup>, Hongmei Tang<sup>1</sup>, Shuangwei Wang<sup>4</sup>, Gengchao Feng<sup>4</sup>, Wei Wei<sup>2</sup>, Mei Hong<sup>1</sup>, Jing Zhao<sup>1,2\*</sup>

1 School of Chemical Biology and Biotechnology, Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen 510008, China

2 State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology; Institute of Chemistry and Biomedical Sciences, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China

3 Jiangsu Key Laboratory of New Drug Research and Clinical Pharmacy; School of Pharmacy, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, China

4 Ambulanc (Shenzhen) Tech. Co. Ltd., Shenzhen 518052, China

\*Corresponding author (email: jingzhao@nju.edu.cn)

**Abstract:** In the biological system, there are various gas molecules, which play key roles in the system. Specially, NO, CO and H<sub>2</sub>S are recognized as gasotransmitters, involving in the signal transduction and related biological events. Even though remarkable advance in the field has been made these years, the roles of gasotransmitters in the biological systems are not fully understood. For further exploration of the functions of gasotransmitters, fast, high selective and high sensitive analysis and imaging methods are highly required. Development on these methods has become an important cross discipline among chemical biology, bioinorganic chemistry, pharmacy and medicine. The current review focuses on the development of the small molecule fluorescent probes for gasotransmitters in recent years, and hopefully this work would attract the interest of the field.

**Keywords:** gasotransmitter, fluorescent imaging, small molecule probe



# 征 稿 简 则

**简介:** 《中国科学: 化学》(中文版)和 *SCIENCE CHINA Chemistry* (英文版)是中国科学院和国家自然科学基金委员会共同主办、《中国科学》杂志社出版的学术刊物, 主要报道化学科学及其交叉领域的基础研究与应用研究等方面具有创新性和重要科学意义的最新研究成果. 现为月刊, 中文版每月 20 日出版, 英文版每月 1 日出版.

**收录情况:** 《中国科学: 化学》和 *SCIENCE CHINA Chemistry* 是两个完全独立的刊物. 中文版被《中国科学引文数据库》、《中国期刊全文数据库》、《中国科技论文与引文数据库》和《中国数字化期刊群》等收录, 并进入《中文核心期刊要目总览》; 英文版被 SCI, CA, EI, Current Contents, Google Scholar, SCOPUS, INSPEC, ChemWeb, Current Chemical Reactions 等检索系统和数据库收录.

**栏目:** 《中国科学: 化学》设有以下主要栏目:

**专题论述:** 一般为特邀文章. 针对作者本人及其课题组所从事的研究工作进行系统介绍和评述, 并对该研究领域的发展做出展望.

**评述:** 综述所研究领域的重要成果, 评论研究现状, 提出今后研究方向的建议. 要求作者在该领域从事过系统的研究工作, 或者所做工作与该领域的研究紧密相关.

**论文:** 报道化学基础研究及应用研究各领域具有创新性和重要科学意义的最新科研成果.

**快报:** 简要、迅速地报道具有创新性和新颖性的科研成果.

**亮点介绍:** 评介近期在本刊或其他国内外重要刊物上发表的重要研究成果.

**投稿:** 请访问《中国科学: 化学》网站 [chem.scichina.com](http://chem.scichina.com) 在线投稿. 首次投稿时需注册一个“作者账户”, 按照提示与引导进行操作.

**审稿:** 稿件将由编委会组织同行专家进行评审, 并做出录用与否的决定. 评审过程大约需要 40~60 天. 评审结束后, 无论录用与否, 编辑部将及时向作者转达评审意见. 作者若在 90 天内没有收到编辑部有关稿件的取舍意见, 在通知编辑部后, 稿件可以改投他刊. 本刊不受理“一稿多投”之稿件.

**文章署名:** 通讯作者应保证稿件内容经全体作者认可并同意署名. 投稿后, 任何署名的改变要有全体原作者签名同意的书面材料.

**文章版权:** 稿件被录用后, 全体作者必须签署“著作权转让声明书”, 将该论文(各种语言版本)所享有的复制权、发行权、信息网络传播权、翻译权、汇编权在全世界范围内转让给《中国科学: 化学》的出版单位《中国科学》杂志社. 全体著作权人授权《中国科学》杂志社根据实际需要独家代理申请上述作品的各种语言版本(包含各种介质)的版权登记事项.

**地址:** 北京东黄城根北街 16 号  
**电话:** (010) 64016732 (编辑部)  
(010) 64019709 (发行部)  
(010) 64008316 (广告部)  
**传真:** (010) 64016350

**邮政编码:** 100717  
**电子信箱:** [chemistry@scichina.org](mailto:chemistry@scichina.org) (编辑部)  
[sales@scichina.org](mailto:sales@scichina.org) (发行部)  
[ads@scichina.org](mailto:ads@scichina.org) (广告部)

## 中国科学 化学 SCIENTIA SINICA Chimica

第 45 卷 第 8 期 2015 年 8 月出版

版权所有, 未经许可, 不得转载

主 管	中 国 科 学 院	出 版	《中国科学》杂志社
编 辑	中 国 科 学 院 《中国科学》编辑委员会	印刷装订	北京中科印刷有限公司
	北京(100717)东黄城根北街 16 号	总发行处	北京报刊发行局
主 编	万 立 骏	订 购 处	全国各邮电局 《中国科学》杂志社发行部

刊号: ISSN 1674-7224 代号: 国 外 BM40B  
CN 11-5838/O6 国内邮发 80-202

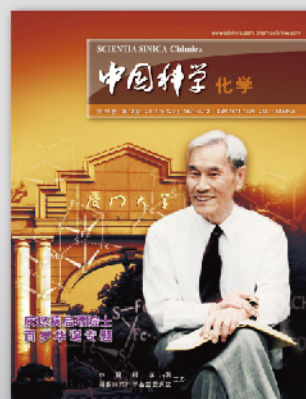
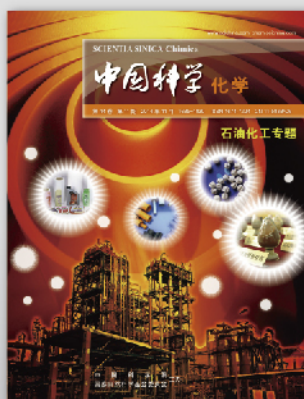
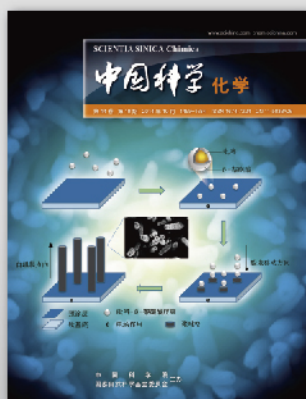
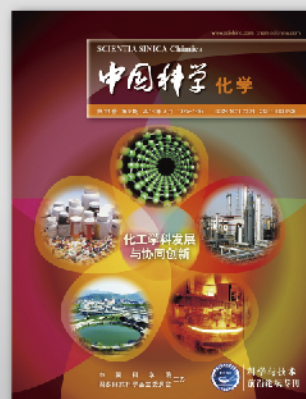
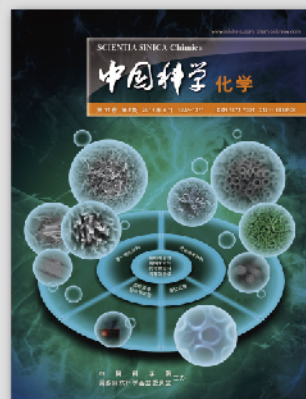
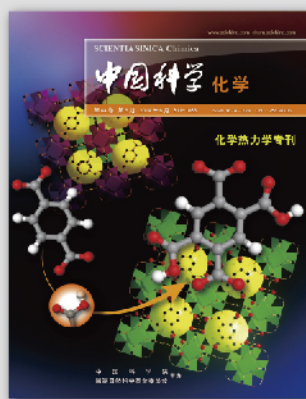
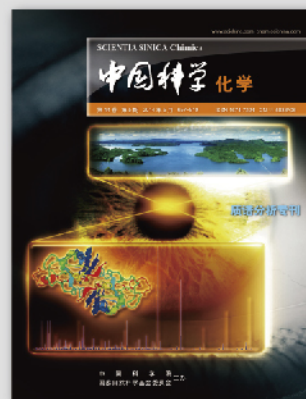
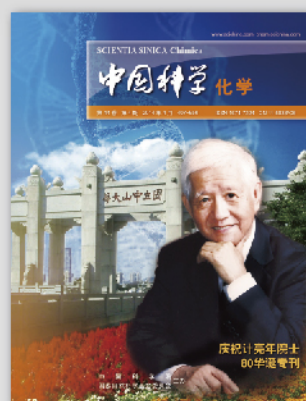
每期定价: 145.00 元 全年定价: 1740.00 元

广告经营许可证: 京东工商广字第 0429 号



# COVERS IN 2014

主编：万立骏（中国科学院化学研究所）



主办单位：中国科学院 国家自然科学基金委员会

# SCIENCE CHINA PRESS

ISSN 1674-7224



9 771674 722154

08>