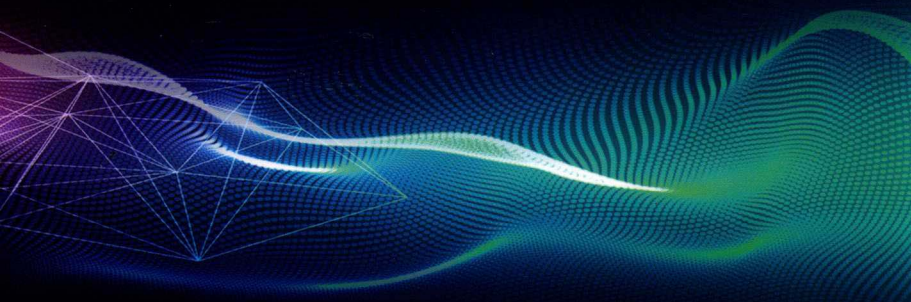


光学分子传感器

基本理论与应用

于春伟 著



GUANGXUE FENZI CHUANGANQI
JIBEN LILUN YU YINGYONG



中国石化出版社

[HTTP://WWW.SINOPEC-PRESS.COM](http://www.sinopec-press.com)

光学分子传感器 基本理论与应用

于春伟 著

中国石化出版社

内 容 提 要

本书以光学分子传感器在环境及医学相关领域的应用研究成果为基础,以分析科学和环境科学、材料科学等多学科交叉知识为出发点,内容上注重结合我国环境污染的现状,力求反映当前国内外光学分子传感器的发展趋势,成功地构建了多种新型光学分子传感器体系。主要介绍了光学分子传感器在重金属离子、有机磷农药、阴离子以及活性物种等方面的研究及应用,并对未来光学分子传感器的研究方向作出展望。

本书可供环境科学、医学、生物学、材料学、分析化学等领域的人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

光学分子传感器基本理论与应用 / 于春伟著.
—北京:中国石化出版社,2018.10
ISBN 978-7-5114-5087-6

I. ①光… II. ①于… III. ①光电传感器—研究
IV. ①TP212.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 253157 号

未经本社书面授权,本书任何部分不得被复制、抄袭,或者以任何形式或任何方式传播。版权所有,侵权必究。

中国石化出版社出版发行

地址:北京市朝阳区吉市口路9号

邮编:100020 电话:(010)59964500

发行部电话:(010)59964526

<http://www.sinopec-press.com>

E-mail:press@sinopec.com

北京科信印刷有限公司印刷

全国各地新华书店经销

*

850×1168 毫米 32 开本 8.125 印张 207 千字
2019 年 1 月第 1 版 2019 年 1 月第 1 次印刷
定价:40.00 元

目 录

第一篇 绪 论

第 1 章 光学分子传感器简介	(3)
1.1 光学分子传感器	(3)
1.2 荧光探针	(15)
第 2 章 荧光成像技术	(28)
2.1 荧光显微镜	(29)
2.2 荧光成像技术在生物分析中的应用	(30)
第 3 章 荧光探针的研究进展	(40)
3.1 罗丹明衍生物荧光探针的研究进展	(40)
3.2 萘酰亚胺衍生物荧光探针的研究进展	(61)
3.3 席夫碱荧光探针的研究进展	(72)
3.4 铂族金属配合物光学分子传感器的研究进展	(76)
第 4 章 细胞内活性氧物种和抗氧化系统	(100)
4.1 用于识别模拟谷胱甘肽过氧化物酶的荧光 探针	(102)
4.2 用于模拟过氧化物歧化酶的荧光探针	(103)
4.3 利用巯基二硫键交换反应的荧光探针	(104)
4.4 应用活性氧物种抽氢反应的 π 共轭中断和再生的 荧光探针	(104)
4.5 利用醌与氢醌氧化还原对的荧光探针	(105)

第二篇 金属离子荧光探针的设计研究

第 5 章	Cu^{2+} 荧光探针的设计研究	(111)
5.1	基于罗丹明 B 衍生物的 Cu^{2+} 荧光探针的设计研究	(111)
5.2	基于萘酰亚胺衍生物的 Cu^{2+} 荧光探针的设计研究	(136)
5.3	基于苯甲酰肼衍生物的 Cu^{2+} 荧光探针的设计研究	(142)
第 6 章	Fe^{3+} 荧光探针的设计研究	(152)
6.1	引言	(152)
6.2	自主设计合成基于罗丹明 B 衍生物的 Fe^{3+} 荧光探针	(153)
第 7 章	Cr^{3+} 荧光探针的设计研究	(160)
7.1	引言	(160)
7.2	自主设计合成基于罗丹明 B 衍生物的 Cr^{3+} 荧光探针	(161)
第 8 章	Ag^+ 荧光探针的设计研究	(166)
8.1	引言	(166)
8.2	自主设计合成基于萘酰亚胺衍生物的 Ag^+ 荧光探针	(167)
第 9 章	Zn^{2+} 荧光探针的设计研究	(175)
9.1	引言	(175)
9.2	自主设计合成 Zn^{2+} 荧光探针	(176)
第 10 章	Mg^{2+} 荧光探针的设计研究	(186)
10.1	引言	(186)
10.2	自主设计合成基于苯甲酰肼衍生物的 Mg^{2+} 荧光探针	(186)

第 11 章	Al^{3+} 荧光探针的设计研究	(190)
11.1	引言	(190)
11.2	自主设计合成 Al^{3+} 荧光探针	(191)

第三篇 基于多核环金属化钯-偶氮配合物比色探针的设计研究

第 12 章	有机磷农药比色探针的设计研究	(205)
12.1	引言	(205)
12.2	自主设计合成基于铂族-偶氮染料配合物的比色探针	(207)

第四篇 基于双核环金属化钯-偶氮配合物的比色探针的设计研究

第 13 章	硫氰酸根比色探针的设计研究	(217)
13.1	引言	(217)
13.2	自主设计合成基于双核环金属化钯-偶氮配合物的硫氰酸根的比色探针	(218)

第五篇 多核环金属化钯-偶氮配合物在其他生理活性物质识别中的应用

第 14 章	苯酚、苯胺类化合物比色探针的设计研究	(227)
14.1	引言	(227)
14.2	自主设计合成基于多核环金属化钯-偶氮配合物的苯胺、苯酚类化合物比色探针	(228)

第 15 章 青霉素 G 及其代谢产物比色探针的设计	
研究	(233)
15.1 引言	(233)
15.2 自主设计合成基于多核环金属化钼-偶氮配合物 的青霉素 G 及其代谢产物的比色探针	(234)

第六篇 专著结语

第 16 章 总结与展望	(241)
16.1 光学分子传感器研究工作总结	(241)
16.2 光学分子传感器研究的工作展望	(243)

第一篇 绪 论

第 1 章 光学分子传感器简介

基于光学分子传感器与分析物的作用而引起光信号变化的传感、成像分析，由于具有高灵敏度、高时空分辨能力等特点，目前已广泛用于化学、生命、环境、食品、医药等领域。性能优良的光学分子传感器是构筑各种新型光学传感与成像分析方法的物质基础，因而一直受到人们的关注。

1.1 光学分子传感器

分子传感器指的是一类可以用一定的宏观物理信号以响应特定目标物种存在的功能化分子，因其可以应用于一些微观系统结构信息的探测而日益得到重视。为了实现微观系统的探测，尤其是生命微观系统的探测，光学信号成为分子传感器的首选信号显示形式，原因是：一，光信号穿透性强而又对生命体无损伤或损伤很小；二，光信号的导出不需要与传感器(分子)建立电学的“接口”联系；三，光信号具有很好的空间、时间分辨性和大的信噪比，便于在信号的有/无之间进行切换；四，光信号具有突出的高灵敏度优势，同时又可以通过显微技术进一步进行信号放大；五，光是一种可视化的信号，通过显微镜或成像技术可以进行直观的原位检测。光学信号传导之所以成为分子传感器首选的信号显示形式，还有一个潜在的原因，即分子结构和环境因素对分子吸收与发光的影响规律已经得到充分的研究，这为设计光学分子传感器提供了极大的方便。在过去的几十年里，金属离子的光学分子传感器已广泛应用于生物学和环境科学领域的研究^[1-6]，阴离子和中性物种的光学分子传感器

的设计最近几年日益得到人们的重视^[7-11]，特别是一些具有生理或环境效应的物种。

光学分子传感器按其信号检测方法的不同，主要分为荧光探针和比色探针。荧光探针主要依靠荧光信号为检测手段，通常有荧光信号的增强、猝灭或者发射波长的移动；比色探针主要借助于色调的变化，通过肉眼观察就可以检测，或者利用吸光度进行定量分析。

当某种荧光物质接受入射光(一般是紫外线或 X 射线)照射，会发出不同于入射光的出射光，并且只要光源一消失，出射光也会随之快速消失，我们称具备这种性质的发射光为荧光。荧光的发光原理是荧光物质吸收入射光后变成极不稳定的激发态，容易通过辐射等方式跃迁回基态，在跃迁过程中，光子的发射运动过程产生了荧光现象。

在 1575 年，荧光现象被西班牙科学家第一次发现并记录，后面的两三百年内，荧光并没有得到实质上的发展和应用，直到 19 世纪，荧光才被第一次作为分析手段，并且逐渐被人们所重视。到了 21 世纪，由于光导纤维、纳米材料、激光和电子学等新技术的引入，使得各种新型的荧光检测技术不断出现，如近红外荧光分析法，荧光光纤化学传感器，低温荧光测定，荧光显微与成像技术等。同时，荧光分析具有高灵敏度、高选择性、分析方法简便、取样量少、动态线性范围宽、重现性好、仪器易得等优点，越来越受到人们的欢迎。

由于荧光可以从内置结构中发射出来，即使不直接接触也可以检测，所以荧光技术也被称为非侵入性检测技术。与传统检测技术相比，非侵入性检测有着很多优势，它包括高的灵敏度，良好的选择性，短的响应时间，可对检测对象在原位进行实时监控和观察。更重要的是这种检测技术对细胞内活性物种的内源性分布不产生外加干扰，从而最大程度地得到内源性物种变化的真实信息。荧光分析法同样存在一些局限性，比如有

许多待测物质本身并没有荧光性质或者荧光性质很弱，这些物质就无法直接使用荧光仪进行荧光测定，为了解决这一问题，就需要另加一种荧光试剂即荧光探针，通过荧光探针的荧光性质改变来研究待测物质，荧光探针的出现在很大程度上扩大了荧光分析法的应用范围。有机合成有机合成化学推动了许多科学领域的进步。各种各样的小分子荧光探针和新显微技术的强有力的发展使得荧光显微镜在生物医学和生物学领域起着重要的关键性作用。从这个角度出发，合成化学和生物成像之间的共生关系不断推动着探针设计和检测仪器的协同发展。以有机合成为基础，以生物显微技术为手段，发展能对生命体进行原位、实时、动态的可视化监测的高选择性和灵敏度的分子荧光探针是当前生命科学研究的重要热点和难点领域之一。

1.1.1 分子传感器与传统器件传感器的异同

分子传感器是一类可以根据目标物种的存在而改变自身的某些物理化学性质，从而具有“报告”功能的分子。传统器件传感器指的是一些待测组分在其特定区域的表面吸附、氧化或还原时改变其宏观理化性质的器件化的固态基质材料。两者有着本质区别(表 1-1)。分子传感器和器件传感器的种种区别来源于他们出现的背景。分子传感器目的是为了了解化学、材料科学和生命微观系统精细的组成和结构信息的探索，器件传感器显然无法满足这些要求——只有具有活动性的小分子才能进入相应的待研究系统进行“探测”。正是由于其结构单元和探究对象的不同，决定了它们在一系列性能要求上的差别。

表 1-1 分子传感器与器件传感器的异同

比较项目	分子传感器	器件传感器
结构单元	分子	器件
检测对象	微观系统或宏观试样	宏观试样

续表

比较项目	分子传感器	器件传感器
性能差异	活体的原位、实时监测	自动化、智能化检测
输出信号	光或者电信号	光或者电信号
信号效果	直观、可原位成像	间接信号转换
灵敏度要求	视检测对象而定；可通过显微技术	要求灵敏度
可逆性、重复性及使用寿命的要求	一次性使用，重现性要求不高，可以是不可逆的	长期重复使用，重现性要求良好，较长的使用寿命
运用费用	低	高
工艺的难易程度	合成	接口技术

1.1.2 光学分子传感器的基本设计思路

一般的讲，光学分子传感器通常包括识别单元(受体)和信号单元两个部分，前者用于与待测物种(客体)进行选择性的结合，后者则把这种结合作用通过特定的信号形式显示出来。识别单元与信号单元之间可以是共价结合的，也可以是非共价结合的，其基本的构建方式如图 1-1^[12]所示。

1) 识别单元与信号单元共价偶联连接形式(图 1-1)。这是一种最经典、适用范围最广的光学分子传感器构建方式，在阳离子、阴离子和中性小分子的分子传感器设计中得到广泛使用。当识别单元与目标物种选择性结合后，影响了信号基团参与的光物理过程，如光诱导电子转移(Photoinduced Electron Transfer, PET)、分子内电荷转移(Intramolecular Charge Transfer, ICT)、电子能量转移(Electronic Energy Transfer, EET)、信号基团之间的激基缔合物(Monomer-Excimer)平衡，或者信号基团的结构刚性或电子跃迁类型的变化等等，导致信号基团发光性质的改变，从而达到传感的目的。

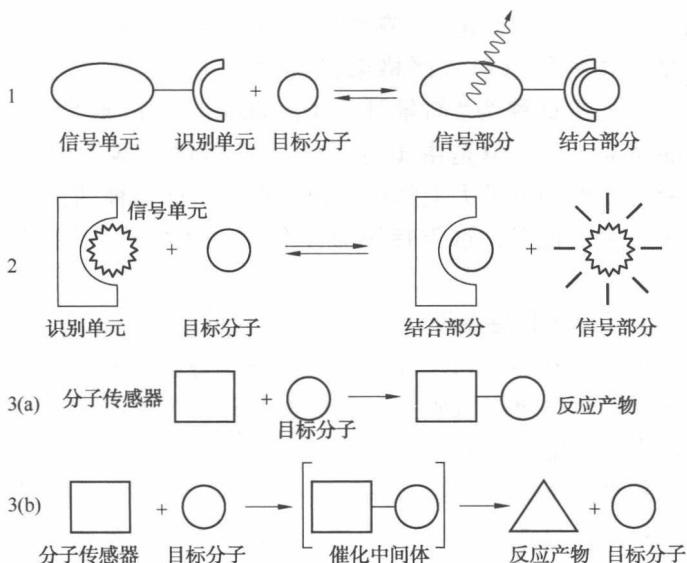


图 1-1 光学分子传感器的基本结合模式

2) 竞争取代形式或指示剂形式。在这种传感形式中,识别单元与信号单元并没有进行共价连接,而是先通过相对较弱的配位作用形成“传感系综物”(Sensing Ensemble)。外加目标物种进入传感体系时,由于其与识别单元的结合能力更强,便取代信号单元占据识别位点,信号单元游离到溶液中去。根据信号单元结合态与游离态的构象不同所引起的光谱性质差异而达到光学传感的目的。其中,信号单元实际上起到的是一个“指示剂”(Indicator)的作用,故这种搭建形式也称“指示剂形式”。它在已报道的以过渡金属配合物作为阴离子传感器的研究中占有很大的比例。

3) 不可逆共价反应形式。在这种传感形式中,传感分子本身兼有识别(共价反应)和信号功能(反应前后的光谱效应)。它与目标识别物种进行共价反应或者在目标识别物种的催化下发生共价反应,反应后传感分子的结构发生改变,引起其光谱性

质的改变,从而达到光学“传感”的目的。由于其作用过程的不可逆性,这种传感形式严格来说不能称为“传感器”(Chemosensor),而应该称为“剂量计”(Chemodosimeter)或“反应剂”(Chemoreactant)。但是由于分子传感器相对于器件传感器来说,对可逆性的要求大大降低,而其在对目标物种的识别选择性上又有突出优势,这类传感分子仍被归入“分子传感器”的范畴。

在光学分子传感器设计中,识别单元的设计是核心的内容。目前采用的识别驱动力主要有三类:一是静电、氢键、疏水作用等弱作用力协同作用加上一定构象限制的辅助而形成的自组装驱动力,适用于各类目标物种的分子传感器的设计,但通常选择性和水溶液操作性较差,识别单元与信号单元结合稳定常数不大;二是金属-配体相互作用,尤指以配合物金属中心作为识别位点与目标物种结合的传感形式,通常具有较好的选择性和水溶液操作性,识别单元与信号单元结合稳定常数大,但光信号输出形式的设计比较困难;三是特异性的共价反应,通常具有较好的选择性和较高的灵敏度,但属不可逆的“传感”过程。这几类识别驱动力(尤其是前两类)可以在同一传感体系中协同运用以达到最佳的识别效果,一切统一于“选择性”这一分子传感的核心要素。

1.1.3 光学分子传感器的识别机理

我们认为在检测条件下,无论什么样的光学分子传感器都应该对活性物种非常微小的变化有着显著的光学信号的改变(包括发光强度、波长和寿命的变化),给出可靠的测试结果,同时能避免干扰,尤其是胞内源性物种的干扰。因此,用于有效地监测细胞内功能性物种浓度变化的光学分子传感器必须满足几个严格的要求,包括良好的选择性、高灵敏性、光稳定性,并在适当的浓度范围内起作用的能力^[13-15]。此外所需的染料要

有高荧光量子产率以降低探针在细胞内的用量，这可以最大限度地减少改变内源性物种自然分布的影响。为了最大限度地减少光损伤，避免细胞自体荧光的影响，长波激发和发射的信号单元是理想的。最后，光学分子传感器还必须与生物系统兼容要有一定的水溶解度和低生物毒性。在小分子光学分子传感器设计策略上还要十分注意信号单元和识别单元的选择。信号单元作为信号传感器将识别信息转换成光信号的变化，以显示待测物反应前后荧光试剂的区别。对于识别基团部分，它起着对分析对象有效地进行选择识别的任务。值得指出的问题是荧光基团和识别基团的链接通过或不通过桥键连接都行，这要看具体的设计思路。对于直接连接的光学分子传感器，信号单元的某些原子也可能作为识别基团的一部分参与识别过程，光信号的变化结果往往是整个分子结构变化的结果，包括信号单元和识别单元。强荧光物质往往具备以下性质：1) 大的刚性共轭 π 键平面结构；2) 具有 π, π^* 型最低的电子激发态 S_1 ^[16]；3) 具有供电子的取代基团。因此，理论上所有对发光性能有影响的因素，都可以用来设计光学分子传感器。

1. 改变 π 电子体系的范围

调节共轭 π 电子系统不同的程度，通常会改变荧光发射波长和荧光量子产率，甚至是荧光寿命^[17-19]。如果一个有机荧光化合物能专一性的与分析物相互作用而改变了其 π 共轭体系的延伸程度，那么这个荧光化合物就可以作为一个分析物的荧光探针。

2. 推电子或吸电子基团取代基效应

取代基团对芳香体系荧光特性的影响是复杂的。在有机荧光分子母体上引入的取代基主要分为推电子和吸电子两种取代基。推电子取代基主要有： $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{NR}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}$ (R 为烷烃) 等，这类取代基对分子的荧光强度可起到增强的作用。含这类取代基的有机荧光分子，其激发态的产

生常常是由于其取代基上 O 或 N 原子中的非键电子(n 电子)被激发到 π 键上造成,取代基的孤对电子参与有机荧光分子的共轭大 π 键,相当于扩大了共轭体系,使其最大吸收波长和荧光发射波长比不含取代基的母体分子的波长红移,荧光强度明显增加。而引入吸电子取代基对荧光强度的影响则与推电子取代基相反,会导致荧光减弱。吸电子取代基主要有: $C=O$ 、 $-NO_2$ 、 $-COON$ 、 $-CHO$ 、 $-COR$ (R 为烷基)、 $-N=N-$ 、卤素(Cl 、 Br 、 I)等。这类取代基中的 n 电子跃迁到 π 键上属于禁阻跃迁,激发态分子数较少,因而放出光子的激发态分子数也就大为减少,导致荧光减弱。

3. 光诱导电子转移

在荧光探针设计过程中,较为常见的是利用光诱导电子转移(Photoinduced Electron Transfer, PET)原理设计的荧光探针。这类探针设计原理明确,所得的荧光现象为猝灭或者增强^[20-22]。如果荧光探针的受体部分能提供一个分子轨道位于荧光团的最高占据分子轨道(Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO)和最低未占据分子轨道(Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO)的能量之间,那么整体上就可以发生分子内 PET 过程。根据纳入“附近的”轨道的性质,荧光团填充 HOMO 轨道电子和受激发填充 LUMO 轨道电子向受体空轨道发生的跃迁,这个过程可分为 Acceptor-PET(A-PET)和 Donor-excited PET(D-PET)过程。此时将发生激发电子无辐射的失活过程,观察到荧光猝灭现象。荧光探针识别分析物后, PET 过程受到影响从而导致荧光猝灭或增强。

4. 光诱导分子内电荷转移

当两个供电子基和吸电子基组成一个 π 电子体系时,就会形成电子供体- π 共轭桥-电子受体(D- π -A)的分子^[23,24],造成分子内电荷转移(Intramolecular Charge Transfer, ICT),从而改变分子的电荷分布。荧光团形成 ICT 的结果是有了一个大的极