

A Highly Sensitive Squaraine-Based NIR Probe for Biothiols with Colorimetric and Ratiometric Changes

Shiwen Li, Jianhui Qiao, Dan Luo, Linna Zhu*

Faculty of Materials & Energy, Southwest University, Chongqing
Email: lnzhu@swu.edu.cn

Received: Apr. 29th, 2018; accepted: May 15th, 2018; published: May 24th, 2018

Abstract

In order to detect high sensitivity and selective biothiol, we designed and synthesized a NIR probe based on a symmetrical squaraine derivative (Sq-TPE), with absorption and emission bands beyond 700 nm. Sq-TPE exhibits high sensitivity and selectivity towards biothiols over the other amino acids and bioanalytes. The addition of three biothiols results in significant color changes of Sq-TPE from cyan to yellow, and meanwhile ratiometric emission changes from red to orange. More excitingly, it shows detection limits as low as 9.8 nM for Cys, 12.4 nM for GSH and 9.7 nM for HCy, respectively.

Keywords

Biothiol, Cysteine (Cys), Glutathione (GSH), Homocysteine (HCy), NIR Fluorescent Probe

基于方酸菁的近红外探针分子通过颜色和比率荧光响应高效检测生物硫醇

李施汶, 乔建辉, 罗丹, 朱琳娜*

西南大学材料与能源学部, 重庆
Email: lnzhu@swu.edu.cn

收稿日期: 2018年4月29日; 录用日期: 2018年5月15日; 发布日期: 2018年5月24日

*通讯作者。

文章引用: 李施汶, 乔建辉, 罗丹, 朱琳娜. 基于方酸菁的近红外探针分子通过颜色和比率荧光响应高效检测生物硫醇[J]. 材料科学, 2018, 8(5): 548-558. DOI: [10.12677/ms.2018.85064](https://doi.org/10.12677/ms.2018.85064)

摘要

我们设计并合成了一种基于对称结构的方酸衍生物(Sq-TPE)的近红外(NIR)探针用于高效检测生物硫醇。Sq-TPE的吸收和发射峰均在700 nm以上。在测试的多种氨基酸和生物小分子中, Sq-TPE对硫醇具有较高的灵敏度和选择性。三种生物硫醇的加入使Sq-TPE的颜色发生了从青色到黄色的显著变化, 同时, 荧光发射从红光变为橙光。此外, Sq-TPE对Cys, GSH和HCy的检测限分别为9.8 nM, 12.4 nM,和9.7 nM。

关键词

生物硫醇, 半胱氨酸(Cys), 谷胱甘肽(GSH), 同型半胱氨酸(HCy), NIR荧光探针

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

硫醇如半胱氨酸(Cys)、谷胱甘肽(GSH)和同型半胱氨酸(HCy), 是许多蛋白质和小分子的重要组成部分, 也是生命活动过程中不可或缺的[1] [2]。例如, 体内缺乏半胱氨酸会引起儿童生长缓慢、肝脏损伤和皮肤病等[3] [4]。作为细胞中含量最高的硫醇, 谷胱甘肽可以提高细胞的抗氧化能力, 对细胞生长过程的氧化应激和代谢功能起着至关重要的作用。谷胱甘肽水平也与许多其他的疾病直接相关[5]。此外, 血液中同型半胱氨酸的增加将导致维生素 B12 的缺乏, 甚至引起阿尔茨海默症[6]。因此, 检测硫醇具有重要意义。

在过去的几十年中, 检测硫醇的方法有很多, 包括高效液相色谱法(HPLC) [7]、电化学方法[8] [9]、毛细管电泳法(CE) [10]、质谱法(MS) [11]和荧光法[12] [13] [14]等等。[15] [16] [17]这些技术方法中, 荧光法由于其灵敏度高、易于操作的特点受到了广泛关注。然而, 大多数的生物样品通常在低于 600 nm 的波长范围内有荧光发射, 很容易和荧光探针的荧光发射光谱重叠, 从而干扰荧光检测的灵敏度[18]。事实上, 在近红外光区(700 nm 以上), 生物样品中的背景干扰可大大降低[19] [20]。因此, 设计合成具有高灵敏度以及良好选择性的近红外荧光探针来检测硫醇是十分必要的。

在本工作中, 我们发现设计合成的对称性方酸分子 Sq-TPE 可以作为一种近红外荧光探针来检测硫醇化合物。方酸菁染料分子带隙很低, 核心结构是一个常见的缺电子单元, 很容易被亲核试剂进攻, 如 F 和含硫基的化合物等等[21], 导致共轭结构发生改变, 从而产生颜色和荧光发射的变化。我们测试了 Sq-TPE 分子对硫醇化合物的选择性响应, 通过紫外吸收光谱和荧光光谱对其检测机理和检测效果进行了研究。

2. 实验部分

2.1. 药品、试剂及仪器

初始原料均采购于阿拉丁生化科技股份有限公司、百灵威科技有限公司和安耐吉化学试剂公司等。合成过程中用到的溶剂(甲苯和四氢呋喃等)均在氩气氛围下, 经溶剂处理装置处理后使用。此外, 其它的试剂和药品除特殊标注外, 均直接使用。核磁共振氢谱和碳谱测试采用的是 Bruker AVANCE III 600 MHz

核磁共振仪,以氘代氯仿为溶剂,四甲基硅烷为内标。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF)采用的是 Bruker Autoflex 质谱仪,以 1,8,9-三羟萘作为基质。紫外-可见吸收光谱采用岛津 UV-2450 型紫外可见光谱仪测试,电化学实验是在 CHI660A 型电化学工作站上进行的,所有电化学测试均是在氩气保护下,以二茂铁为内标,以 0.1 mol/L 四丁基六氟磷酸铵的二氯甲烷溶液为电解质溶液,扫描速度为 50 mV/s。

2.2. 中间产物 2 和终产物 Sq-TPE 的合成

中间体 2 和最终产物 Sq-TPE 的合成路线如图 1 所示。

2.2.1. 中间产物 2 的合成

将化合物 1 (500 mg, 1.04 mmol)和 1-hexyl-1H-pyrrole-2-carbaldehyde (186 mg, 1.04 mmol)置于 150 mL 两颈烧瓶中,通氩气 15 min 除氧,加入 40 mL THF 溶解,于 0°C 下一次性加入 NaH (150 mg, 3.75 mmol)。反应 30 min 后升至室温,然后在 65°C 下回流反应过夜。反应完成后,将反应液倒入冰水中,用三氯甲烷萃取后合并有机相,水洗三次,然后用无水硫酸钠干燥,过滤后旋干溶剂,得到粗产品。粗产品经柱层析纯化,淋洗剂为三氯甲烷和石油醚的混合溶剂,体积比为 1:5,得到亮黄色固体 320 mg,产率 61%。

2.2.2. 终产物 Sq-TPE 的合成

将化合物 2 (320 mg, 0.63 mmol)和 3,4-二羟基-3-环丁烯-1,2-二酮(36 mg, 0.32 mmol)置于 150 mL 两颈烧瓶中,通氩气 15 min 除氧,加入 20 mL 甲苯和 20 mL 正丁醇溶解,在回流冷凝管上加一分水器,回流反应过夜。反应完成后,将反应液倒入冰水中,用三氯甲烷萃取后合并有机相,水洗三次,然后用无水硫酸钠干燥,过滤后旋干溶剂,得到粗产品。粗产品经柱层析纯化,淋洗剂为三氯甲烷和石油醚的混合溶剂,体积比 1:1,得到棕黑色固体 158 mg,产率 46%。

3. 结果与讨论

3.1. 中间产物和终产物的氢谱碳谱分析

1) 中间产物 2: $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.17 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), δ 7.15-7.01 (m, 15H), δ 6.97 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), δ 6.87 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), δ 6.76 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), δ 6.65 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H), δ 6.44-6.43 (m, 1H), δ 6.13 (t, $J = 3.0$ Hz, 1H), δ 3.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), δ 1.73-1.70 (m, 2H), δ 1.33-1.26 (m, 6H), δ 0.87 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ 143.86, 143.80, 142.45, 140.92, 140.73, 136.04, 131.69, 131.44, 131.38, 127.79, 127.68, 127.63, 126.47, 126.40, 125.62, 125.24, 122.53, 116.88, 108.23, 106.56, 47.02, 31.55, 31.39, 30.90, 29.72, 26.48, 22.54, 13.99.

2) 终产物 Sq-TPE: $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.83 (s, 2H), δ 7.37 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), δ 7.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), δ 7.17-6.95 (m, 38H), δ 6.85 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), δ 6.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), δ 4.79 (d, $J = 6.6$ Hz, 4H), δ 1.74 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H), δ 1.37-1.27 (m, 12H), δ 0.86 (t, $J = 6.6$ Hz, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ 168.88, 145.95, 144.96, 143.58, 143.53, 143.44, 141.85, 140.33, 134.79, 134.35, 132.02, 131.39, 131.36, 131.32, 130.55, 127.86, 127.80, 127.67, 126.73, 126.65, 126.61, 126.42, 123.98, 114.76, 113.82, 46.66, 32.08, 31.56, 29.69, 26.13, 22.51, 13.98. HRMS-ESI m/z : calcd for $\text{C}_{80}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1093.5667, found 1093.5652.

3.2. 方酸分子 Sq-TPE 的光物理性质

图 2 表示的 Sq-TPE 分子在二氯甲烷溶液中的紫外-可见吸收光谱和荧光发射光谱。如图所示, Sq-TPE 分子的吸收峰主要在 714 nm 处,代表的是方酸分子的分子内电荷转移(ICT),从两侧的 TPE-pyrrole 基团

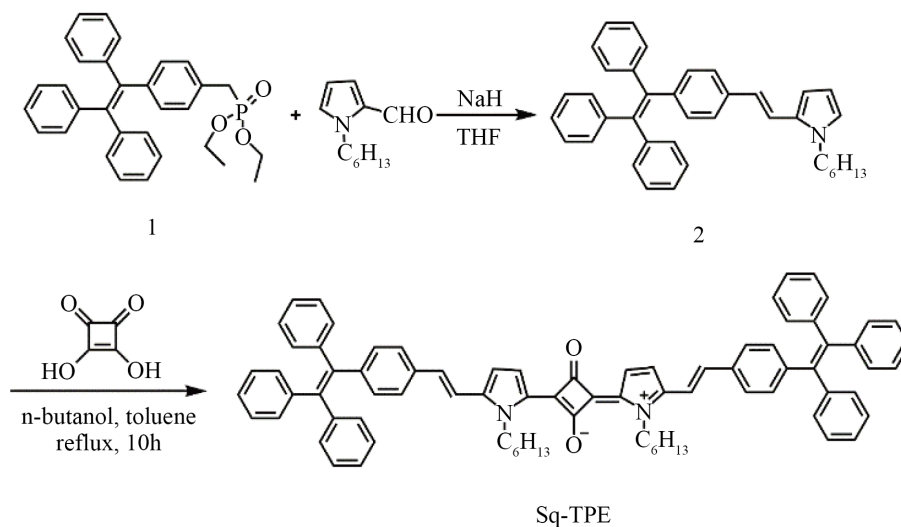


Figure 1. Synthetic routes for the squaraine dye Sq-TPE

图 1. Sq-TPE 分子的合成路线

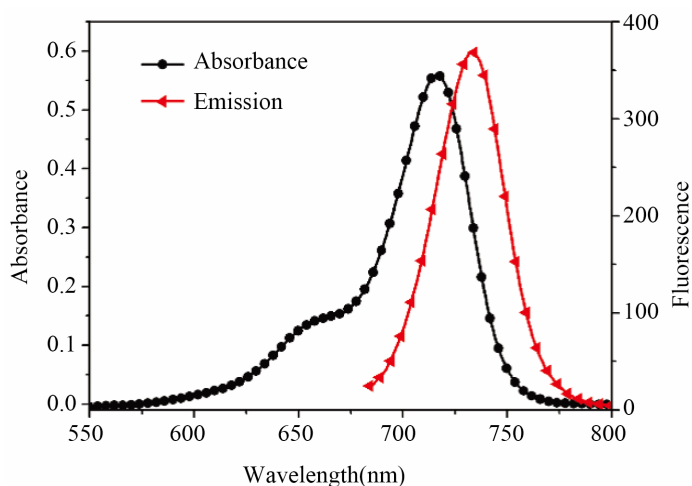


Figure 2. UV-vis absorption (black line) and the emission spectra (red line, λ_{ex} 665 nm) of Sq-TPE (2 μM) in CH_2Cl_2

图 2. Sq-TPE 在二氯甲烷溶液中的紫外-可见吸收(黑线)和荧光发射光谱(红线)

向中间方酸结构单元进行电荷转移。Sq-TPE 分子在近红外光区也表现出强烈的荧光发射，最大的发射波长为 740 nm。Sq-TPE 分子的吸收和发射谱带都很窄，而均位于近红外光区，斯托克斯位移也只有 18 nm，这些均符合方酸菁染料的典型特征。

3.3. 紫外和荧光滴定

我们首先研究的是 Sq-TPE 探针分子对硫醇的响应情况。图 3 是荧光探针对硫醇的紫外和荧光滴定图，其中滴定实验是在 DMSO- H_2O 混合溶剂中进行的，溶剂体积比为 9:1。如图 3(a) 所示，随着 Cys 的加入，Sq-TPE 探针在 714 nm 处的最大吸收强度逐渐降低。与此同时，在 425 nm 处出现一个新的吸收带，并逐渐增强。相应地，由图 3(a) 中的插图可以看到，溶液产生了一个肉眼可见的颜色变化，从墨绿色到黄色。吸收的变化表明，Cys 的加入使得 Sq-TPE 分子的共轭结构发生了变化。荧光光谱的激发波长为 665 nm，

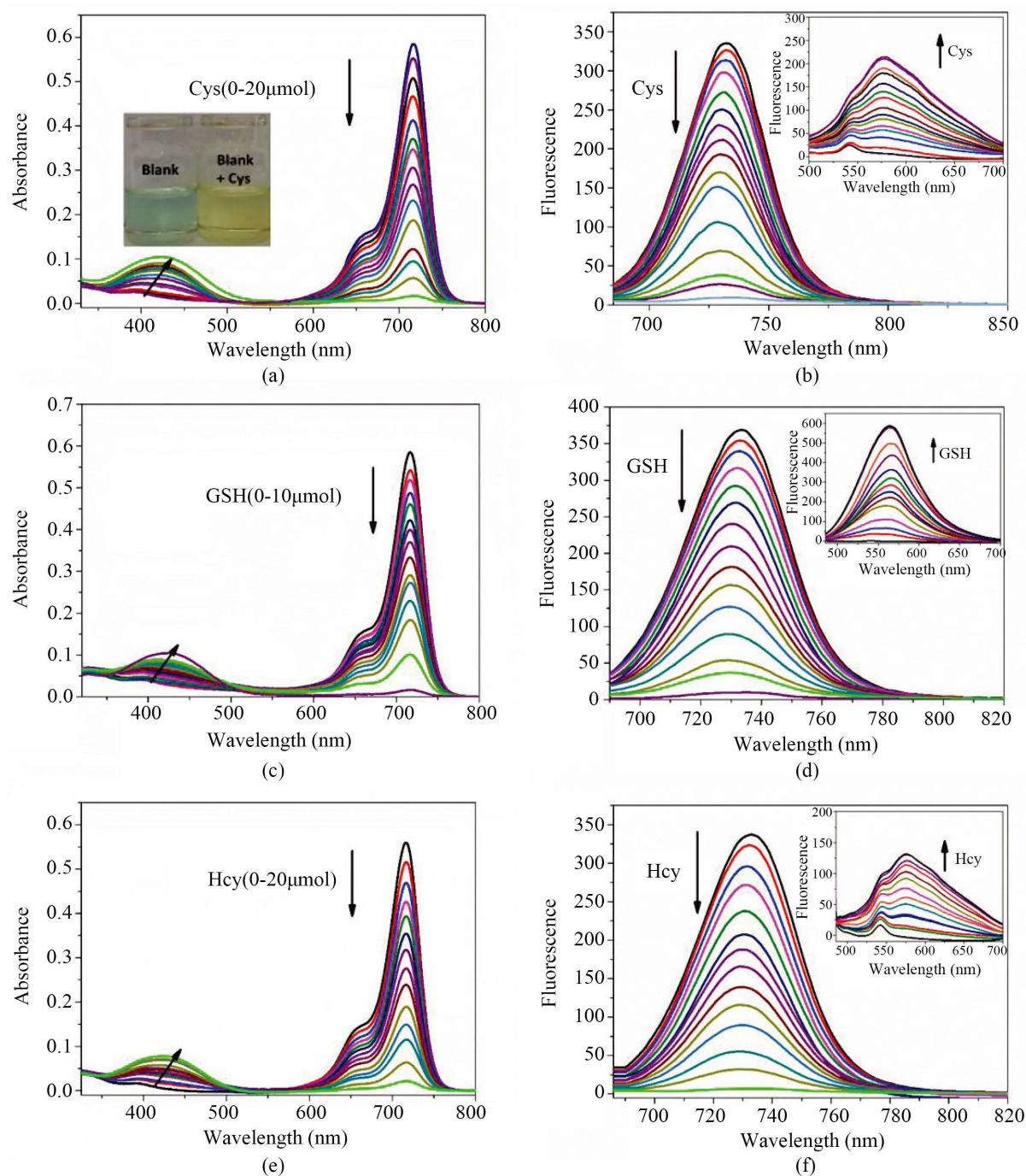


Figure 3. The changes of absorption spectra of Cys, GSH and Hcy by Sq-TPE probe molecules (a) and emission spectra (b, excited at 665 nm) of Sq-TPE (2 μM) with addition of Cys (0–20 μM). Inset: (a) the color change of Sq-TPE after addition of Cys; (b, d, f) the change of emission spectra (excited at 425 nm)

图 3. Sq-TPE 探针分子对 Cys、GSH 和 Hcy 的紫外和荧光的滴定图。插图：a 添加 Cys 后，Sq-TPE 的颜色变化；b、d 和 f 激发波长为 425 nm 的荧光滴定图

为了保持荧光发射光谱的完整性没有用最大吸收波长(710 nm)激发。如图 3(b)，随着 Cys 的加入，Sq-TPE 探针分子在 740 nm 的荧光强度逐渐降低直至完全淬灭。另一方面，当激发波长为 425 nm 时，探针分子在 575 nm 处的荧光强度却逐渐增强，从图 3(b)中的插图可以很清楚地观察到，这也与近红外发射强度的

减弱相对应。加入 Cys 后, 紫外吸收和荧光发射的变化完全一致, 证明了 Sq-TPE 分子的共轭结构受到破坏。当探针分子应用于对 GSH 和 Hcy 的检测时, 由图 3 中的 c-f 图可以看出, 结果与对 Cys 的检测效果类似。以上结果表明, Sq-TPE 探针分子可同时通过颜色变化和比率荧光响应来检测硫醇。

3.4. 检测限及 Job 曲线

检测限(LOD)是衡量一个探针检测性能的标准。因此, 我们测试了 Sq-TPE 分子对硫醇的检测限。以 Cys 为例, 根据紫外滴定图, 我们取最大吸收点(714 nm)强度的变化和对应的 Cys 浓度作图, 如图 4(a)所示。在 Cys 的浓度在 0~2 μM 范围内, 714 nm 处的吸收强度变化几乎是成线性的($R^2 = 0.9946$)。根据线性拟合方程 $A = 0.57924 - 0.19719 [\text{Cys}]$ (μM)得出标准曲线的斜率 k , 然后根据公式 $3\sigma/k$ (其中 σ 为空白溶液的标准偏差) [22], 计算得到 Sq-TPE 对 Cys 的最低检测限为 9.8 nM。用相同的方法计算, Sq-TPE 对 GSH 和 Hcy 的检测线分别为 12.4 nM 和 9.7 nM, 拟合曲线见图 4(b)和图 4(c)。表 1 给出了最近报道的一些关于硫醇检测的探针分子的检测限, 相比之下, 在相似测试环境下, 我们的荧光探针分子 Sq-TPE 对硫醇检测的灵敏度更高[23] [24] [25]。

为了研究 Sq-TPE 与硫醇的相互作用, 我们测定了 Sq-TPE 与硫醇分子作用的 Job 曲线。以 Cys 为例, Sq-TPE 和 Cys 的总浓度固定为 2 $\mu\text{mol/L}$, 改变 Sq-TPE 与 Cys 的浓度比分别为 0:10、1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 和 10:0, 然后进行紫外吸收光谱的测试, 以 Cys 的浓度为横坐标, $A_0 - A$ 为纵坐标(A 代表的是 Sq-TPE 在加入 Cys 时的最大吸收值(714 nm 处), A_0 是纯 Sq-TPE 溶液的最大吸收值)进行作图。如图 5(a), 当 Cys 的浓度为 0.5 时, $A_0 - A$ 达到最大值。另外, 实验表明 Sq-TPE 分子对于另外两种硫醇化合物 GSH 和 Hcy 的响应情况和 Cys 是类似的。由此得出, Sq-TPE 与几种硫醇相互作用的化学计量比均为 1:1。

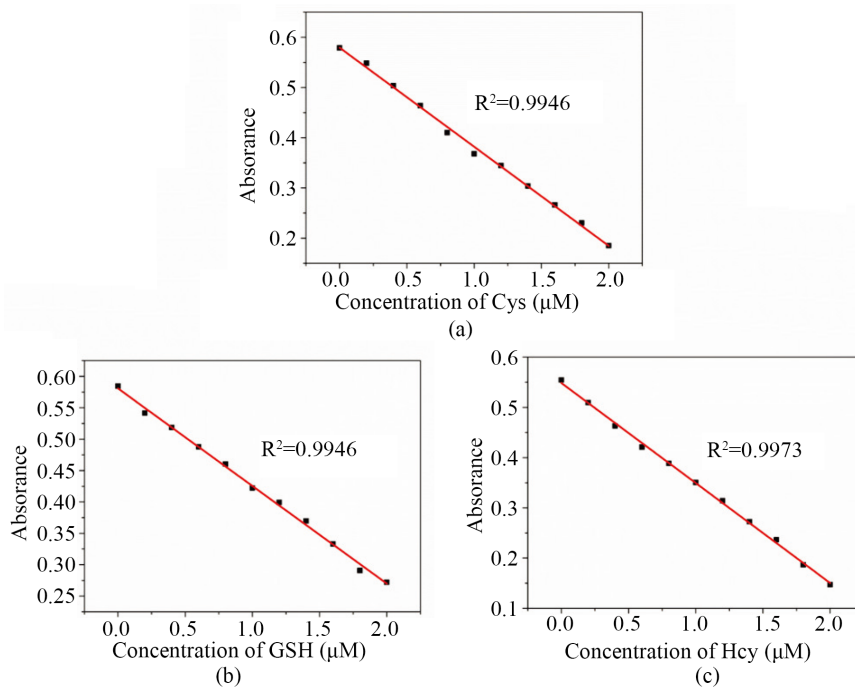


Figure 4. Plots of absorption intensity change of Sq-TPE (2 μM) at 714 nm against varied concentrations of GSH and Hcy from 0 to 2 μM

图 4. Sq-TPE 探针分子在 714 nm 处的吸收与不同浓度的硫醇(Cys、GSH 和 Hcy)在 0~2 μM 范围内的线性拟合曲线

Table 1. A summary of recent developed fluorescent probes for Cys
表 1. 近年来报道的荧光探针对 Cys 的检测限

Ref.	Anayte	LOD	Solvent
24	Cys	1.96 $\mu\text{mol/L}$	DMSO/H ₂ O
25	Cys	64 nmol/L	DMSO/H ₂ O
26	Cys	31 nmol/L	DMSO/H ₂ O
27	Cys	20 nmol/L	DMF/H ₂ O
This paper	Cys	9.8 nmol/L	DMSO/H ₂ O

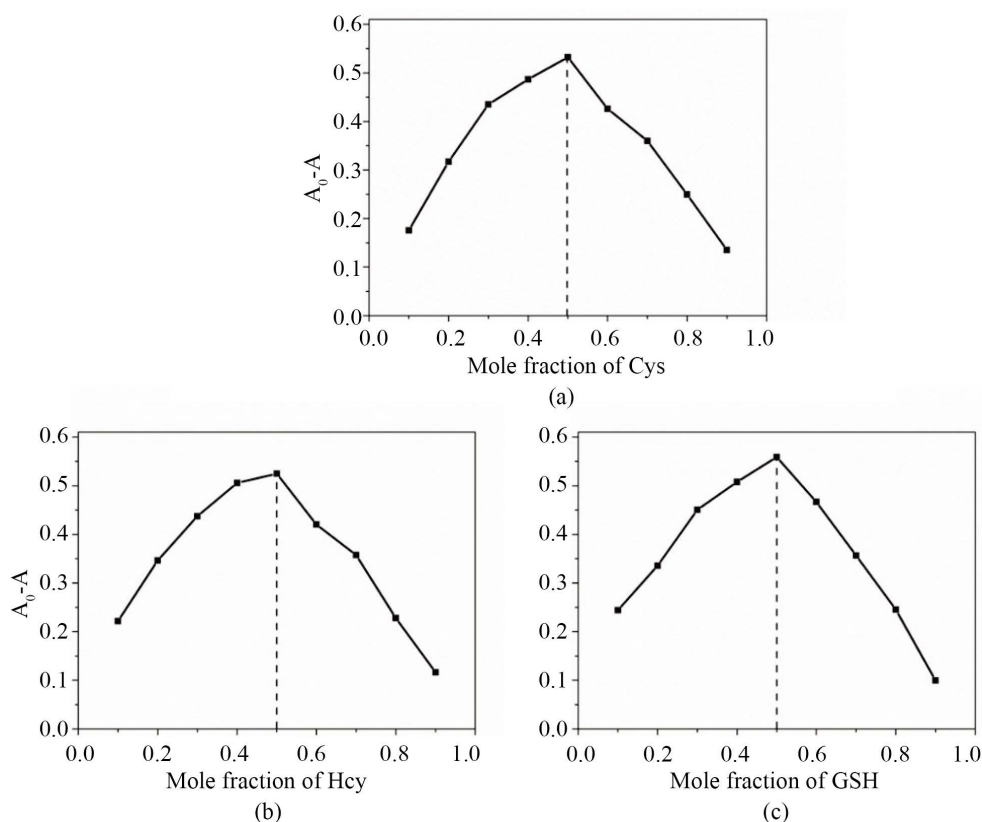


Figure 5. Job's plots for the complexation of Cys, GSH and Hcy with Sq-TPE. A_0 and A represent the absorbance intensities at 714 nm in the absence and presence of GSH and Hcy, respectively

图 5. Sq-TPE 探针分子与硫醇(Cys、GSH 和 Hcy)结合的 Job 曲线

3.5. 检测机理

方酸菁染料分子的核心结构是一个强吸电子基团，往往容易被富电子亲核试剂进攻，如硫醇、F⁻、CN⁻等。根据以往的文献报道，硫醇(Cys)应该会进攻方酸的中心环，如图 6 所示。Cys 的引入导致整个分子的共轭断裂，从而导致分子内电荷转移作用减弱。该反应机理与加入含硫氨基酸后吸收和荧光发射的变化情况也是一致的。可以注意到，随着 Cys 浓度逐渐增加，在 425 nm 处的吸收和 575 nm 处的荧光发射均有所红移，如图 3 所示。原来的短波长的吸收(约 400 nm)和荧光发射(550 nm 波长)来自 TPE-py 单元。显然，Sq-TPE 分子在形成硫醇加合物后依然具有吸电子性，而且其分子内电荷转移程度要强于 TPE-py 单元。因此，随着硫醇的加入，Sq-TPE-Cys 组分逐渐增多，在滴定曲线上表现为一定的红移。

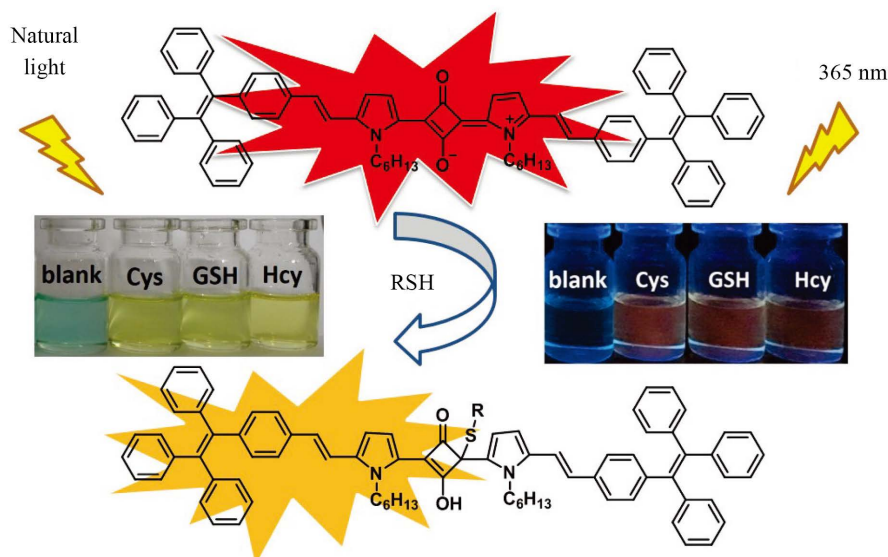


Figure 6. Structure of Sq-TPE and proposed reaction mechanism

图 6. Sq-TPE 探针分子的化学结构及对硫醇的检测机理

3.6. 探针分子对硫醇检测的专一性

我们继续研究了 Sq-TPE 探针分子对不同氨基酸的选择性。在 Sq-TPE 溶液(5 $\mu\text{mol/L}$)中加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 的各种氨基酸, 包括半胱氨酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、蛋氨酸、丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸、精氨酸、酪氨酸、亮氨酸、脯氨酸、色氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和组氨酸。从图 7(a) 可以看到, 只有加入含巯基的氨基酸, 即加入有 Cys、GSH 和 Hcy 的 Sq-TPE 溶液的荧光发生了淬灭。相比之下, 其他所有的氨基酸加入后溶液的荧光强度均无明显变化。图 8 更加直观, 随着 Cys、GSH 和 Hcy 加入, 溶液的颜色有一个明显的从墨绿色到黄色的变化, 这一变化是肉眼可见的。同时, 在 365 nm 激发下, 溶液的荧光也转变为橙色。结果表明, Sq-TPE 探针分子对硫醇化合物具有很高的选择性。

事实上, 在生物条件下进行检测不仅存在一种分析物, 竞争总是存在的。因此, 为了进一步探讨 Sq-TPE 探针的选择性, 我们进行了以下测试: 在 Sq-TPE 溶液(5 $\mu\text{mol/L}$)中加入 150 $\mu\text{mol/L}$ 各种不同的竞争性氨基酸以及金属离子和其他一些阳离子等, 包括 Na^+ 、 K^+ 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 H_2O_2 和葡萄糖, 然后加入 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 Cys, 接着对两种情况下在 740 nm 处荧光强度的变化进行比较, 结果如图 7(b)所示。显然, 加入所有的竞争物后 740 nm 处的荧光强度并无太大的变化。然而, 将 Cys 添加到混合物中, 溶液的荧光随即发生淬灭。这些结果表明, Sq-TPE 对硫醇具有很好的选择性, 在检测过程不会受到这些竞争物的干扰。此外, 我们就 Sq-TPE 对 F^- 、 S^{2-} 和 CN^- 等亲核试剂的响应情况也进行了研究, 排除这些常见的亲核试剂的干扰。如图 9 所示, F^- 、 S^{2-} 和 CN^- 的加入并不能改变 Sq-TPE 的发光, 而只有在硫醇存在的情况下, Sq-TPE 的荧光才会发生改变。因而进一步证明了 Sq-TPE 探针分子对硫醇检测的高度专一性。

4. 结论

综上所述, 我们设计合成了新型方酸菁分子 Sq-TPE, 并研究了其对硫醇的检测情况, 结果发现该荧光探针在近红外光区有着很强的吸收和荧光发射。Cys、Hcy 和 GSH 加入后, 溶液颜色明显从墨绿色变为黄色, 荧光发射也发生了改变。而且 Sq-TPE 探针分子对硫醇的检测具有高度的专一选择性, 不受其他氨基酸以及阳离子等干扰物的影响。Sq-TPE 探针分子对 Cys、Hcy 和 GSH 检测限分别为 9.8 nM、12.4 nM

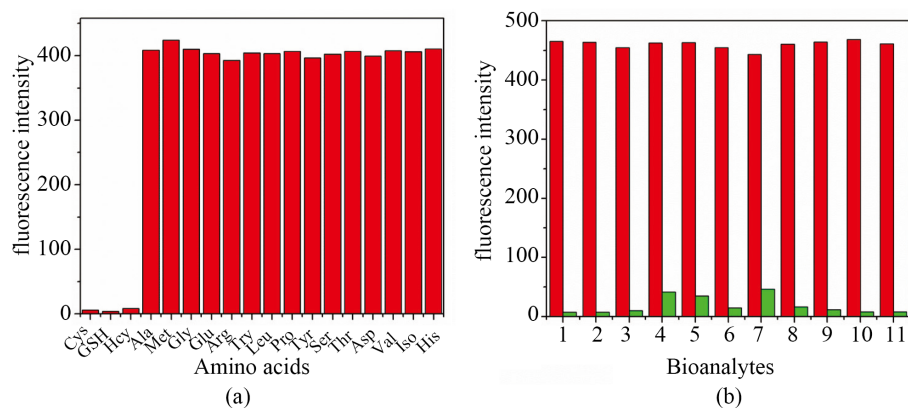


Figure 7. The fluorescence intensity changes of Sq-TPE at 740 nm: (a) different amino acids; (b) other various analytes. The red bars represent fluorescence intensity of Sq-TPE in the presence of competing substances, the green bars represent the fluorescence intensity upon addition of Cys to the solutions containing Sq-TPE and competing substances

图 7. Sq-TPE 探针分子对不同的氨基酸的响应情况：红色条柱代表加入各种竞争物的荧光强度变化，绿色条柱代表的是加入各种竞争物后继续添加 Cys 的荧光强度变化

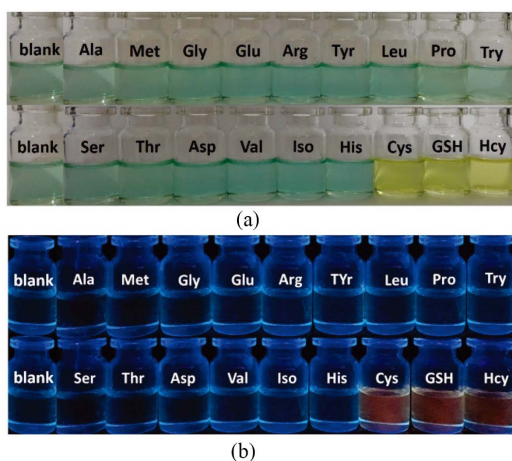


Figure 8. The photoimages of Sq-TPE upon addition of different amino acids (50 μM): (a) under natural light; (b) excited at 365 nm

图 8. 向 Sq-TPE 溶液中加入不同氨基酸后溶液颜色的变化情况，即：(a) 自然光下；(b) 365 nm 荧光灯下

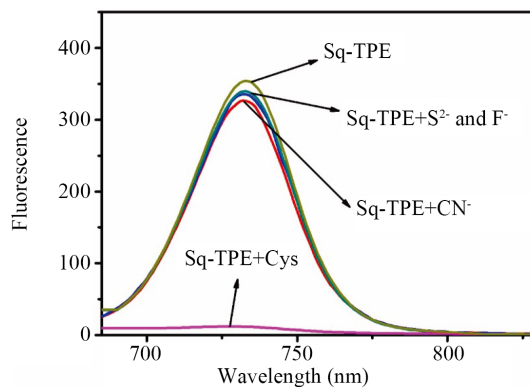


Figure 9. The responses of S²⁻, F⁻, CN⁻ and Cys (20 μM) to Sq-TPE (20 μM) at 740 nm

图 9. Sq-TPE 探针分子对 F⁻、S²⁻ 和 CN⁻ 的响应情况

和 9.7 nM, 低于最近报道的一些关于硫醇检测的探针分子的检测限。总的来说, Sq-TPE 探针分子可以作为一种近红外比率荧光探针来对硫醇包括半胱氨酸、同型半胱氨酸和谷胱甘肽进行检测, 并且灵敏度和选择性都很高。

基金项目

国家自然科学基金(第 51203046 号)。

参考文献

- [1] Liu, X., Gao, L., Yang, L., Zou, L., Chen, W. and Song, X. (2015) A Phthalimide-Based Fluorescent Probe for Thiol Detection with a Large Stokes Shift. *RSC Advances*, **5**, 18177. <https://doi.org/10.1039/C5RA00255A>
- [2] Shahrokhian, S. (2001) Lead Phthalocyanine as a Selective Carrier for Preparation of a Cysteine-Selective Electrode. *Analytical Chemistry*, **73**, 5972-5978. <https://doi.org/10.1021/ac010541m>
- [3] Johnson, J.M., Strobel, F.H., Reed, M., Pohl, J. and Jones, D.P. (2008) A Rapid LC-FTMS Method for the Analysis of Cysteine, Cystine and Cysteine Steady-State Redox Potential in Human Plasma. *Clinica Chimica Acta*, **396**, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2008.06.020>
- [4] Saetre, R. and Rabenstein, D.L. (1978) Determination of Cysteine in Plasma and Urine and Homocysteine in Plasma by High-Pressure Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry*, **90**, 684-692. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90161-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90161-6)
- [5] Rahman, I. and MacNee, W. (2000) Regulation of Redox Glutathione Levels and Gene Transcription in Lung Inflammation: Therapeutic Approaches. *Free Radical Biology and Medicine*, **28**, 1405-1420. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00215-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00215-X)
- [6] Seshadri, S., Beiser, A., Selhub, J., Jacques, P.F., Rosenberg, I.H., D'Agostino, R.B., Wilson, P.W.F. and Wolf, P.A. (2002) Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, **346**, 476. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011613>
- [7] Ivanov, A.R., Nazimov, I.V. and Baratova, L. (2000) Determination of Biologically Active Low-Molecular-Mass Thiols in Human Blood: I. Fast Qualitative and Quantitative, Gradient and Isocratic Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography with Photometric and Fluorescence Detection. *Journal of Chromatography A*, **895**, 157-166. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00713-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00713-5)
- [8] Fei, S.D., Chen, J.H., Yao, S.Z., Deng, G.H., He, D.L. and Kuang, Y.F. (2005) Electrochemical Behavior of L-Cysteine and Its Detection at Carbon Nanotube Electrode Modified with Platinum. *Analytical Biochemistry*, **339**, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.01.002>
- [9] Wen, M., Liu, H., Zhang, F., Zhu, Y., Liu, D., Tian, Y. and Wu, Q. (2009) Amorphous FeNiPt Nanoparticles with Tunable Length for Electrocatalysis and Electrochemical Determination of Thiols. *Chemical Communications*, 4530-4532. <https://doi.org/10.1039/b907379e>
- [10] Chen, G., Zhang, L.Y. and Wang, J. (2004) Miniaturized Capillary Electrophoresis System with a Carbon Nanotube Microelectrode for Rapid Separation and Detection of Thiols. *Talanta*, **64**, 1018-1023. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.04.022>
- [11] Ráfii, M., Elango, R., Courtney-Martin, G., House, J.D., Fisher, L. and Pencharz, P.B. (2007) High-Throughput and Simultaneous Measurement of Homocysteine and Cysteine in Human Plasma and Urine by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Biochemistry*, **371**, 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2007.07.026>
- [12] Ros-Lis, J.V., Garcia, B., Jimenez, D., Martinez-Manez, R. and Sancenon, F. (2004) Squaraines as Fluoro-Chromogenic Probes for Thiol-Containing Compounds and Their Application to the Detection of Biorelevant Thiols. *Journal of the American Chemical Society*, **126**, 4064. <https://doi.org/10.1021/ja031987i>
- [13] Tang, B., Xing, Y., Li, P., Zhang, N., Yu, F. and Yang, G. (2007) A Rhodamine-Based Fluorescent Probe Containing a Se-N Bond for Detecting Thiols and Its Application in Living Cells. *Journal of the American Chemical Society*, **129**, 11666. <https://doi.org/10.1021/ja072572q>
- [14] Liu, J., Sun, Y.-Q., Huo, Y., Zhang, H., Wang, L., Zhang, P., Song, D., Shi, Y. and Guo, W. (2014) Simultaneous Fluorescence Sensing of Cys and GSH from Different Emission Channels. *Journal of the American Chemical Society*, **136**, 574. <https://doi.org/10.1021/ja409578w>
- [15] Anees, P., Sreejith, S. and Ajayaghosh, A. (2014) Self-Assembled Near-Infrared Dye Nanoparticles as a Selective Protein Sensor by Activation of a Dormant Fluorophore. *Journal of the American Chemical Society*, **136**, Article ID:

13233. <https://doi.org/10.1021/ja503850b>
- [16] Guo, H., Jing, Y., Yuan, X., Ji, S., Zhao, J., Li, X. and Kan, Y. (2011) Highly Selective Fluorescent OFF-ON Thiol Probes Based on Dyads of BODIPY and Potent Intramolecular Electron Sink 2,4-Dinitrobenzenesulfonyl Subunits. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **9**, 3844-3853. <https://doi.org/10.1039/c0ob00910e>
- [17] Lin, W., Yuan, L., Cao, Z., Feng, Y. and Long, L. (2009) A Sensitive and Selective Fluorescent Thiol Probe in Water Based on the Conjugate 1,4-addition of Thiols to α , β -Unsaturated Ketones. *Chemistry: A European Journal*, **15**, 5096-5103. <https://doi.org/10.1002/chem.200802751>
- [18] Patonay, G. and Antoine, M.D. (1991) Near-Infrared Fluorogenic Labels: New Approach to an Old Problem. *Analytical Chemistry*, **63**, 321A-327A. <https://doi.org/10.1021/ac00006a716>
- [19] Yuan, L., Lin, W., Zhao, S., Gao, W., Chen, B., He, L. and Zhu, S. (2012) A Unique Approach to Development of Near-Infrared Fluorescent Sensors for *in Vivo* Imaging. *Journal of the American Chemical Society*, **134**, 13510-13523. <https://doi.org/10.1021/ja305802v>
- [20] Wang, R., Chen, L., Liu, P., Zhang, Q. and Wang, Y. (2012) Sensitive Near-Infrared Fluorescent Probes for Thiols Based on SeN Bond Cleavage: Imaging in Living Cells and Tissues. *Chemistry: A European Journal*, **18**, 11343-11349. <https://doi.org/10.1002/chem.201200671>
- [21] Yu, H., Fu, M. and Xiao, Y. (2010) Switching off FRET by Analyte-Induced Decomposition of Squaraine Energy Acceptor: A Concept to Transform "Turn Off" Chemodosimeter into Ratiometric Sensors. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **12**, 7386-7391. <https://doi.org/10.1039/c001504k>
- [22] Zhao, S.B., Liu, H.T., Wu, F. and Zhu, L.N. (2016) An NIR Molecule-Based "On-Off" Fluorescent and Colorimetric Sensor for Cyanide Anions. *Chemistry Letters*, **45**, 570-572. <https://doi.org/10.1246/cl.160058>
- [23] Li, J., Yin, C., Huo, F., Chao, J., Zhang, Y. and Niu, L. (2015) A Fluorescent Probe for Thiols Based on Strong Nucleophilic Attack of Sulfhydryl and Its Bioimaging. *Analytical Methods*, **7**, 8545-8549. <https://doi.org/10.1039/C5AY01834J>
- [24] Yue, Y., Yin, C., Huo, F., Chao, J. and Zhang, Y. (2016) Thiol-Chromene Click Chemistry: A Turn-On Fluorescent Probe for Specific Detection of Cysteine and Its Application in Bioimaging. *Sensors and Actuators B*, **223**, 496-500. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.09.127>
- [25] Zhang, H., Liu, R., Liu, J., Li, L., Wang, P., Yao, S. Q., Xu, Z. and Sun, H. (2016) A Minimalist Fluorescent Probe for Differentiating Cys, Hcy and GSH in Live Cells. *Chemical Science*, **7**, 256-260. <https://doi.org/10.1039/C5SC02431E>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2160-7613, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: ms@hanspub.org