

文章编号: 1000-7032(2021)11-1810-08

新型姜黄素衍生物荧光探针的合成及对半胱氨酸的选择性识别

罗 凡, 郑东滨, 阳志强, 邓 赟*

(成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137)

摘要: 半胱氨酸(Cysteine, Cys)作为生物体内一种重要的含巯基氨基酸,与细胞代谢、氧化还原稳态密切相关,然而过量的半胱氨酸可能会导致类风湿性关节炎、阿尔兹海默病等。因此,开发一种能选择性识别半胱氨酸的荧光探针具有重要的研究意义。本文设计合成了一种以姜黄素-二氟硼为基本骨架,2-氯-5-硝基苯甲酰基为识别位点的荧光探针分子**1**,并将其用于半胱氨酸的识别。结果表明,探针能高选择性识别Cys,荧光强度与Cys浓度在 $10 \sim 70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系,检出限为 $2.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时,Cys的加入会引起探针溶液颜色肉眼可见的显著变化,由黄色变为无色。此外,该探针能模拟检测水样中添加的半胱氨酸,在自来水、河水样品中的半胱氨酸的回收率为 $98\% \sim 109\%$ 。

关键词: 半胱氨酸;姜黄素衍生物;荧光探针;选择性识别

中图分类号: O482.31 文献标识码: A DOI: 10.37188/CJL.20210211

A Novel Curcumin Derivatives Fluorescent Probe for Selective Recognition of Cysteine

LUO Fan, ZHENG Dong-bin, YANG Zhi-qiang, DENG Yun*

(State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy,
Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

* Corresponding Author, E-mail: dengyun@cdutcm.edu.cn

Abstract: As an important sulfhydryl amino acid in organism, cysteine (Cys) is closely related to cell metabolism and redox homeostasis. However, excess amount of Cys is associated with diseases including rheumatoid arthritis, Alzheimer's disease. Thus, it is of great significance to develop a fluorescent probe for selective recognition of cysteine. In this paper, a fluorescence probe based on curcumin-difluoride and modified with 2-chloro-5-nitrobenzoyl was synthesized for the determination of cysteine. The results showed that the probe could selectively recognize Cys. A good linear relationship between the fluorescence intensity of the probe and Cys concentration in the range of $10 - 70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ was obtained, from which the detection limit was deduced to be $2.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Meanwhile, the addition of Cys could lead to an obvious colour transition from yellow to colourless, permitting a rapid identification of Cys by the naked eye. Moreover, the probe can simulate the detection of Cys in water samples, and the recoveries of Cys in tap water and river samples ranged from $98\% - 109\%$.

收稿日期: 2021-06-18; 修订日期: 2021-06-28

基金项目: 国家自然科学基金(U19A2011); 成都中医药大学一流学科建设项目(CZYJC1905)资助

Supported by National Natural Science Foundation of China(U19A2011); Project First-class Disciplines Development Supported by Chengdu University of TCM(CZYJC1905)

Key words: cysteine; curcumin derivatives; fluorescent probe; selective recognition

1 引 言

半胱氨酸(Cysteine, Cys)是一种生物体内常见的脂肪族含巯基的小分子氨基酸,它主要来源于甲硫氨酸的脱甲基以及胱氨酸的还原^[1]。半胱氨酸具有的独特的亲核性以及氧化还原特性,使得它在各种生理过程中发挥了至关重要的作用,例如细胞代谢、氧化还原稳态、蛋白质的合成等^[2-5]。Cys 在生理浓度范围时(20 ~ 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),能起到保护细胞抗氧化防御、调节新陈代谢等作用^[6]。一旦浓度异常,可能会引发一系列的疾病,例如生长不良、肝损伤、神经毒性、造血功能减退、炎症性肠病、慢性阻塞性肺疾病等^[7-11]。因此,建立一种快速定量检测 Cys 的方法至关重要。

传统的半胱氨酸检测技术主要有高效液相色谱法、碘量法、电化学分析法、气质联用技术等,但大多缺点显著,如样品前处理复杂、测试结果不稳定、步骤漫长、易被干扰、重现性不理想等^[12-16]。与之相比,荧光分析法具有操作简便、成本低廉、灵敏度高、不易损害细胞等优势^[17-20]。荧光探针一般包括识别基团、信号发射基团和连接基团,目前,基于 Cys 的化学性质,已有许多反应型荧光探针被报道,反应机理包括迈克尔加成反应、醛环化反应、重排反应等^[21-26]。

姜黄素(Curcumin, 1,7-双(4-羟基-3-甲氧基苯基)-1,6-庚二烯-3,5-二酮)是一种从姜黄根中提取出的 β -二酮化合物,已有研究证明,姜黄素在抗肝癌、抗肿瘤、抗炎解毒等方面发挥了出色的作用^[27-28]。同时,姜黄素是一个典型的对称性电子共轭体系,这一优势使其具有独特的光学性质。利用这一特点,研究者们设计了很多新颖的姜黄素衍生物,但大多被用于识别金属离子,对生物巯基化合物的检测报道较少^[29]。在前期研究中,我们制备了三异丙基硅修饰的姜黄素类荧光探针,其能在众多阴离子中高选择性、高灵敏性识别检测氟离子,这是首例基于姜黄素骨架的阴离子反应型荧光探针^[30]。基于前期的研究基础,本研究设计合成了一种以姜黄素-二氟化硼为基本骨架、2-氯-5-硝基苯甲酰基作结构修饰的 Cys 猝灭型探针,利用 Cys 与探针发生取代缩合反应和加成反

应,破坏分子共轭结构使荧光猝灭,从而达到检测的目的。

2 实 验

2.1 仪器与试剂

测试仪器:Bruker 600 核磁共振仪(内标物为 TMS,德国布鲁克公司),ISQ EC 单四极杆质谱仪(ThermoFisher 公司,美国),普析 TU-1901 型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),F97Pro18033 型荧光分光光度计(上海棱光技术有限公司),PHS-3CPH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司)。除 2-氯-5-硝基苯甲酰氯购自上海麦克林生化科技有限公司,其余试剂均购自成都科隆化学品有限公司。

2.2 探针的合成

2.2.1 化合物 2 的合成

根据文献合成了化合物 2^[30],将姜黄素(300 mg,0.81 mmol)和三氟化硼乙醚(345 mg,2.43 mmol)置于含 30 mL 无水二氯甲烷溶液的圆底烧瓶中回流搅拌过夜,产物经水洗涤三次用无水硫酸钠干燥,减压除去溶剂后经硅胶柱进一步纯化。以二氯甲烷:石油醚=2:1(体积比)作洗脱剂,得到黄色化合物 2(146 mg,43%)。¹H NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ 10.09(s,2H),7.92(d, J = 15.5 Hz,2H),7.47(d, J = 2.0 Hz,2H),7.34(dd, J = 8.3,2.0 Hz,2H),7.02(d, J = 15.6 Hz,2H),6.87(d, J = 8.2 Hz,2H),6.44(s,1H),3.85(s,6H)。¹³C NMR(150 MHz, DMSO- d_6) δ 178.73,151.35,148.18,146.98,126.00,125.28,117.87,115.96,112.40,101.11,55.77。

2.2.2 探针 1 的合成

将 2-氯-5-硝基苯甲酰氯(66 mg,0.3 mmol)、4-二甲氨基吡啶(37 mg,0.3 mmol)和 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(173 mg,0.9 mmol)置于含 20 mL 无水二氯甲烷溶液的圆底烧瓶中室温搅拌 10 min 后,加入化合物 2(120 mg,0.3 mmol)继续搅拌 8 h,产物经水洗涤三次干燥有机相并过滤,以二氯甲烷作为洗脱剂经硅胶柱纯化得到橙色粉末化合物 1(141 mg,60%)。m. p. 159 ~ 161 $^{\circ}\text{C}$ 。¹H NMR(600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.82(d, J = 2.8 Hz,2H),

8.50 (dd, $J = 8.8, 2.8$ Hz, 2H), 8.12 (d, $J = 15.8$ Hz, 2H), 8.00 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J = 1.9$ Hz, 2H), 7.61 (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 15.7$ Hz, 2H), 6.69 (s, 1H), 3.91 (s, 6H). ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ 180.62, 161.32, 151.58, 146.74, 146.71,

141.98, 139.97, 134.26, 133.47, 129.63, 128.96, 127.01, 124.08, 123.37, 122.60, 114.07, 102.84, 56.83. ESI-HRMS (m/z) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{23}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{12}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 805.0587, found [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 805.0597.

探针 **1** 的合成过程如图 1 所示。

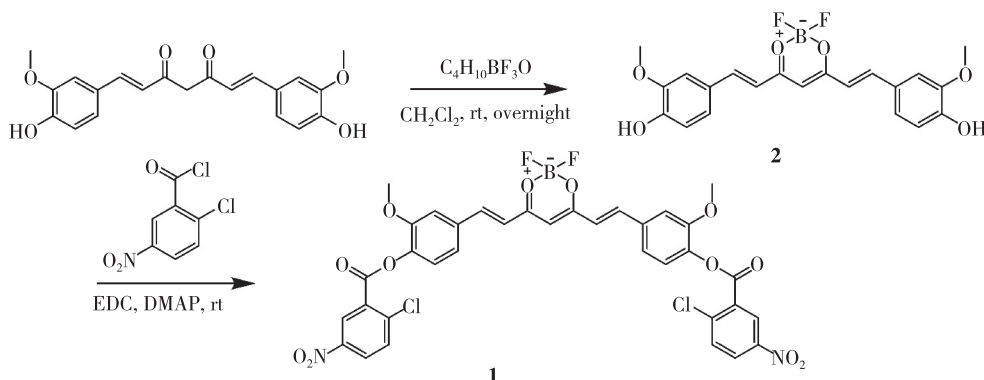


图 1 探针 **1** 的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of probe **1**

2.3 光谱测试

配制 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 探针的 DMSO 溶液作为母液, 用去离子水配制 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、Gly、Leu、Thr、Glu、Ser、Val、Gln、Met, 以及 $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cys、Hcy、GSH。所有的光学测试均在 HEPES 缓冲溶液 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 含 75% DMSO, pH = 7.4) 中进行。激发波长为 470 nm, 荧光测试的激发和发射狭缝宽度均设置为 10 nm, 测试时间为 30 min。

3 结果与讨论

3.1 探针对 Cys 响应的的光谱研究

3.1.1 探针与 Cys 反应的紫外吸收光谱和荧光发射光谱

在 HEPES 缓冲溶液 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 含 75% DMSO) 的中测试了探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 Cys ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的紫外吸收和荧光发射光谱。如图 2(a) 所示, 探针 **1** 在 443 nm 和 468 nm 处有最大吸收, 加入 10 当量的 Cys 后, 在 443 nm 和 468 nm 的最大吸收峰减小并伴随着 387 nm 处出现一个新的吸收峰, 且探针溶液颜色由黄色变成无色。如图 2(b) 所示, 探针 **1** 的最大发射波长为 526 nm, 加入 10 当量 Cys 后, 在 526 nm 处的荧光几乎完全被猝灭, 猝灭率为 95%, 荧光颜色由黄色变为无色。

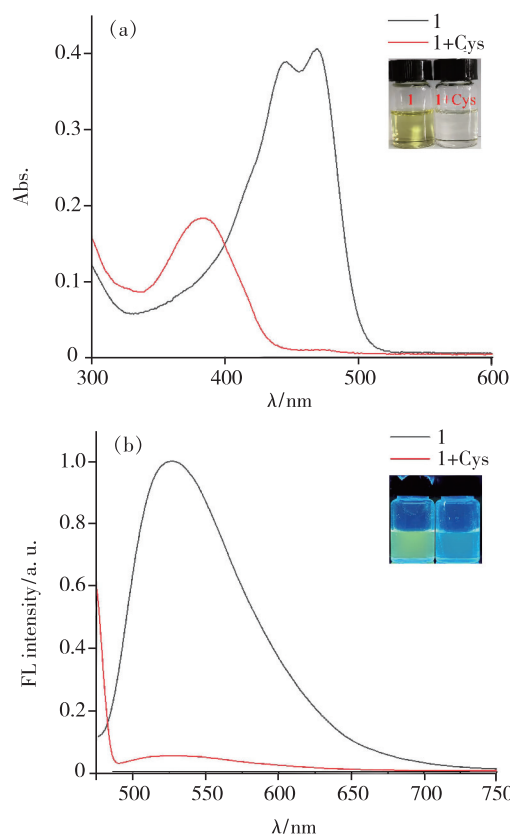


图 2 探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与 Cys ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用的紫外吸收光谱 (a) 与荧光发射光谱 (b)

Fig. 2 UV absorption (a) and fluorescence emission (b) spectra of probe **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in the presence of Cys ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

3.1.2 探针对 Cys 响应时间的研究

响应时间是衡量一个反应型探针重要的参数

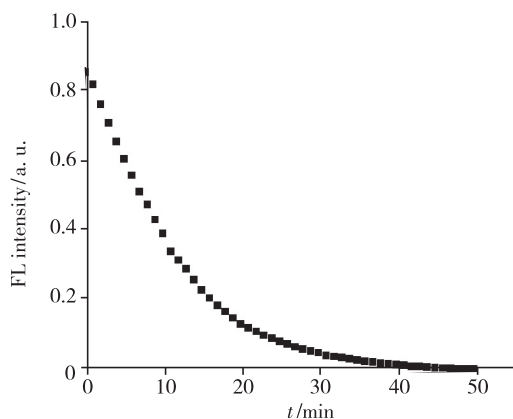


图 3 探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 10 当量 Cys 存在下不同时间的荧光强度 (526 nm) 变化

Fig. 3 Time-dependent fluorescence intensity (526 nm) of probe **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in the presence of 10 equiv. of Cys

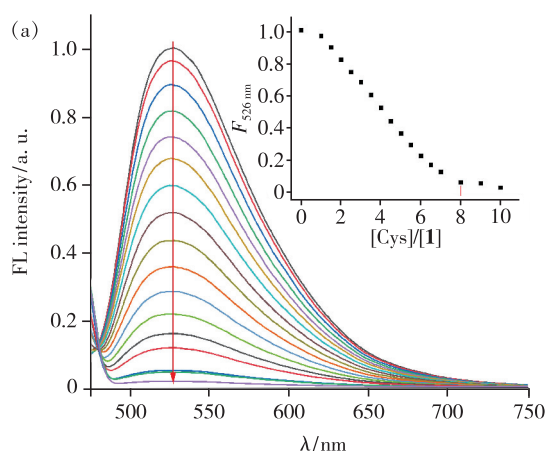


图 4 (a) 探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与不同浓度的 Cys ($0, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 荧光滴定曲线, 插图为加入不同当量 Cys 的探针溶液在 526 nm 处的荧光强度; (b) Cys 的浓度与 526 nm 处荧光强度的线性关系。

Fig. 4 (a) Fluorescence spectral changes at 526 nm of probe **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of Cys ($0, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Inset: fluorescence intensity at 526 nm as a function of Cys concentration. (b) Linear relationship between emission intensity of **1** at 526 nm and the concentration of Cys.

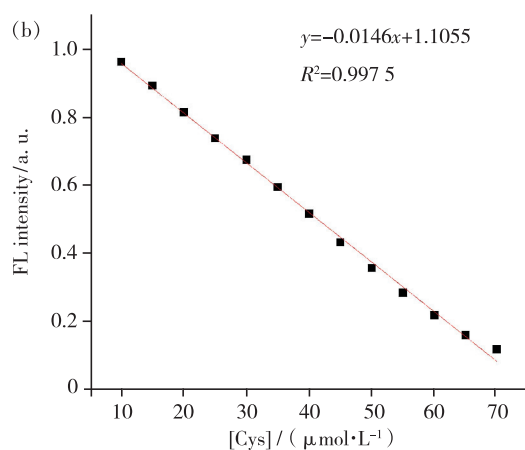
3.2 探针的选择性研究

为了测试探针对 Cys 的选择性, 向探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 中加入 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 不同分析物 (K^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、Gly、Leu、Thr、Glu、Ser、Val、Gln、Met), 以及 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cys、Hcy、GSH, 测定其紫外吸收光谱。如图 5(a) 所示, 加入 Cys 后, 探针在 443 nm 和 468 nm 处的最大紫外吸收明显下降, 其他干扰物对探针的紫外吸收无明显影响, 只有 Hcy 和 GSH 显示出轻微的干扰。为了进一

步评估探针检测 Cys 的抗干扰能力, 在不同分析物的探针溶液中加入 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cys, 测定其荧光发射光谱。如图 5(b) 所示, 结果显示的变化与紫外吸收一致, Cys 可以使探针在 526 nm 处的荧光完全猝灭, 即使在过量的其他干扰物的存在下也不会发生变化。Hcy 和 GSH 的荧光强度虽略有降低, 但与 Cys 相比降低程度不明显, 猝灭率分别为 21% 和 30%。这表明探针对 Cys 的响应具有较高的选择性。

3.1.3 荧光滴定

为了进一步研究 Cys 浓度对荧光光谱的影响, 进行了荧光滴定实验。向 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的探针溶液中依次加入不同浓度的 Cys, 结果如图 4(a) 所示。在仅有探针的溶液中, 荧光强度在 526 nm 处达到最高值, 随着 Cys 浓度的增大, 荧光强度逐渐降低; 当 Cys 浓度增大到 10 当量时, 526 nm 处的荧光完全猝灭。如图 4(b) 所示, 在 $10 \sim 70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围内, Cys 的浓度与荧光强度呈良好的线性关系, 其线性方程为 $y = -0.0146x + 1.1055$ ($R^2 = 0.9975$), 检出限为 $2.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。上述结果证明探针对 Cys 响应的灵敏度较高。



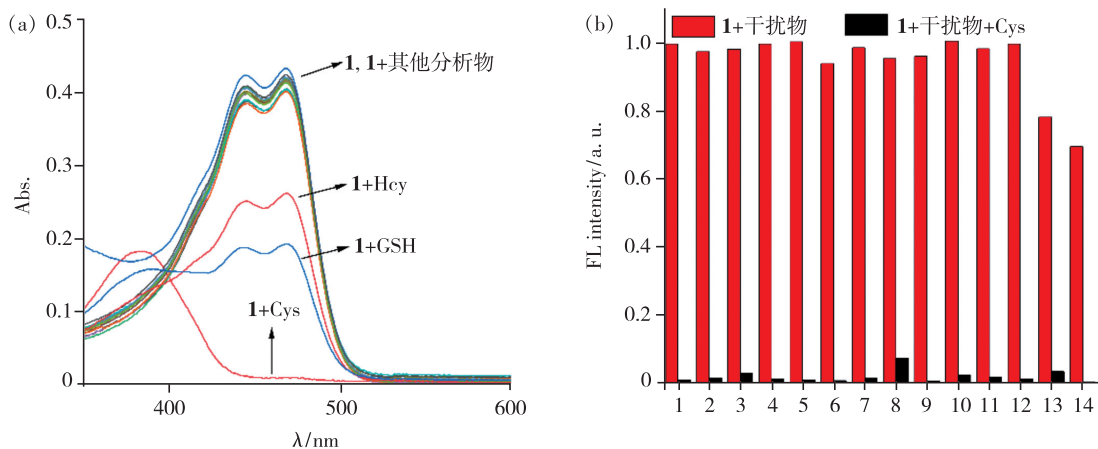


图 5 (a) 探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与不同分析物作用的紫外吸收光谱; (b) 在不同分析物的存在下, 探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与 10 当量的 Cys 作用的荧光强度 (526 nm) 变化 (1. Cys, 2. Fe^{3+} , 3. Ca^{2+} , 4. K^+ , 5. Gly, 6. Leu, 7. Thr, 8. Glu, 9. Ser, 10. Val, 11. Gln, 12. Met, 13. Hcy, 14. GSH)。

Fig. 5 (a) Absorption spectra of probe **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in the presence of various analytes. (b) Fluorescence intensity changes at 526 nm of probe **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon the addition other analytes and 10 equiv. of Cys (1. Cys, 2. Fe^{3+} , 3. Ca^{2+} , 4. K^+ , 5. Gly, 6. Leu, 7. Thr, 8. Glu, 9. Ser, 10. Val, 11. Gln, 12. Met, 13. Hcy, 14. GSH).

3.3 探针对 Cys 检测 pH 范围的研究

为了研究探针在生理条件下对 Cys 是否有良好的检测性能, 研究了 pH 对纯探针 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 以及加入 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cys 后的探针的荧光强度的影响。如图 6 所示, 在 pH 值 5.0 ~ 8.0 范围内, 纯探针溶液的荧光强度基本保持

不变; 加入 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cys 后, 在 pH 值 6.5 ~ 8.0 范围内, 探针溶液的荧光强度发生了显著的变化。在 pH 值为 7.4 时, 加入的 Cys 能使探针的荧光基本完全猝灭。上述研究表明探针能在生理条件下实现对 Cys 的较好选择性识别。

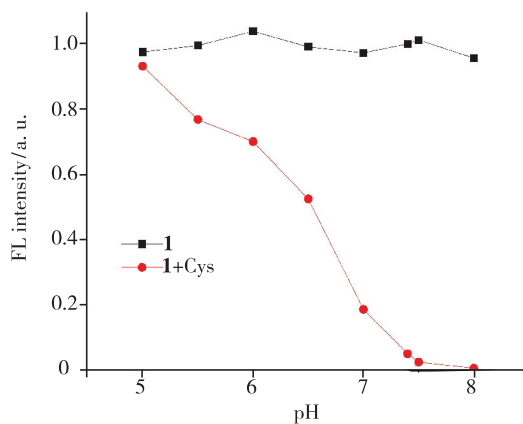


图 6 探针 **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与加入 Cys ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的探针溶液在 pH = 5 ~ 8 的影响下 526 nm 处荧光强度的变化
Fig. 6 Plot of fluorescence intensities at 526 nm of **1** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and in the presence of Cys ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) solution versus pH value

3.4 探针对 Cys 的识别机理研究

为了研究探针对半胱氨酸识别机理, 对加入 10 当量的半胱氨酸的探针溶液进行高分辨质谱检测, 如图 7 所示, 在 $m/z = 207.05084$ 处的峰可以合理地归属于 $[2\text{-}2\text{H}^+]^{2-}$ (理论值为 207.0543)。推测探针与 Cys 发生如图 8 所示的反应, 可能存在两种反应途径: 一是探针分子加入 Cys 后, 巯基

与苯环上的氯原子发生亲核取代反应 (图 8 中 Route 1), 氨基进攻羰基碳发生分子内缩合生成苯并七元环 **3** (在 $m/z = 267.00824$ 处的峰可以归属于化合物 **3**, 理论值为 267.0076); 二是化合物 **2** 骨架双键与 Cys 发生加成反应 (图 8 中 Route 2), 导致共轭结构被破坏, 荧光猝灭 (在 $m/z = 560.1320$ 处的峰可以归属于化合物 $[4 + \text{Na}]^+$, 理论值为

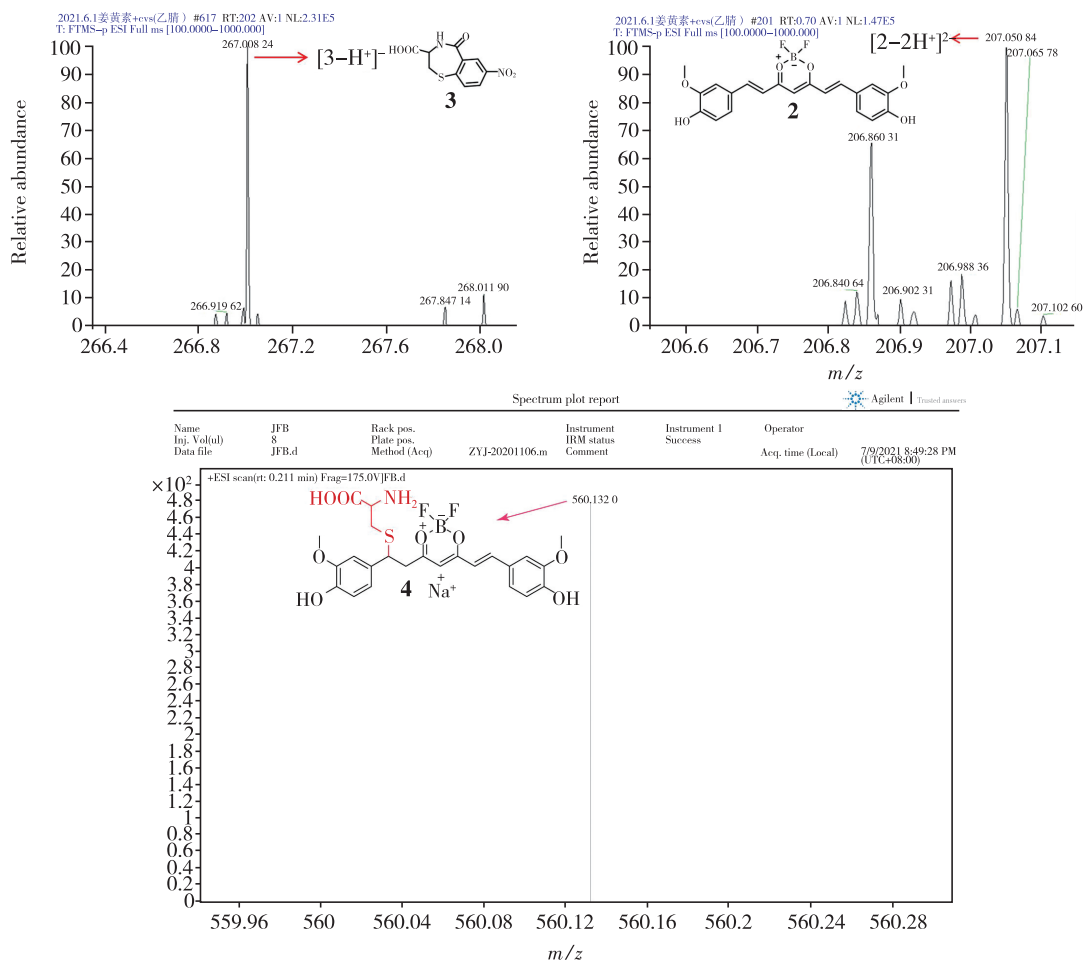


图 7 探针 1 与 10 当量 Cys 反应质谱图

Fig. 7 HR-MS spectrum of the reaction product of probe 1 with Cys(10 equiv.)

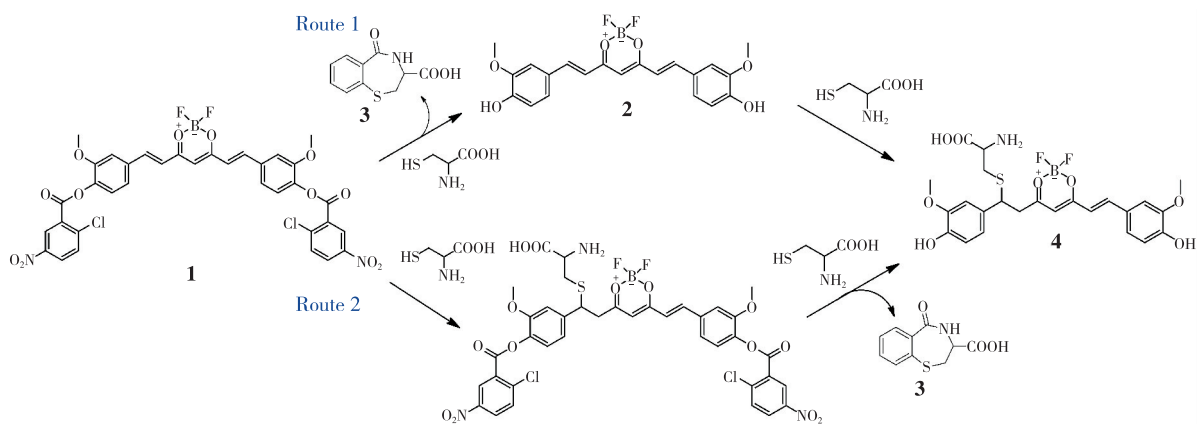


图 8 探针 1 对 Cys 的可能识别机理

Fig. 8 Possible recognition mechanism of probe 1 to Cys

560.133 8)。这两种途径也可能同时进行。

3.5 水样检测

为了研究探针 1 在环境监测中的应用,对成都中医药大学的水样、河水中不同浓度的半胱氨酸进行了检测。直接过滤水样,调节 pH 至

7.4,向含探针的水样中添加不同浓度的半胱氨酸(20,40,60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。如表 1 所示,计算了自来水和河水中半胱氨酸的回收率,回收率范围为 98% ~ 109%。结果表明,探针 1 在实际水样半胱氨酸的定量检测中有潜在的应用价值。

表 1 水样中 Cys 的检测结果

Tab. 1 Determination of Cys in different water samples

Sample	Cys spiked/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Cys recovered/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Recovery/%
Tap water	0	0	—
	20	21.85	109
	40	40.87	102
	60	61.75	103
River	0	0	—
	20	19.64	98
	40	40.94	102
	60	63.50	106

4 结 论

本文合成了一种以姜黄素-二氟化硼作为基

本骨架的新型猝灭型探针。该探针在生理条件下对 Cys 表现出高灵敏度、高选择性以及快速响应,其检测限为 $2.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。识别机理推测为 Cys 与姜黄素中 2-氯-5 硝基甲酰基基团发生亲核取代关环反应和 Cys 与姜黄素骨架双键发生加成反应,使分子的共轭结构被破坏,导致探针荧光猝灭。响应时间为 30 min,溶液颜色由黄色变为无色。此外,该探针能成功应用于水样模拟检测。本研究为构建新的天然姜黄素衍生物荧光探针提供了思路。

本文专家审稿意见及作者回复内容的下载地址:
<http://cjl.lightpublishing.cn/thesisDetails#10.37188/CJL.20210211>.

参 考 文 献:

- [1] YUE Y K, HUO F J, NING P, *et al.* Dual-site fluorescent probe for visualizing the metabolism of Cys in living cells [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139(8):3181-3185.
- [2] YANG Y, FENG Y, LI H, *et al.* Hydro-soluble NIR fluorescent probe with multiple sites and multiple excitations for distinguishing visualization of endogenous Cys/Hcy, and GSH [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2021, 333:129189.
- [3] LI X R, MA H, QIAN J, *et al.* Ratiometric fluorescent probe based on ESIPT for the highly selective detection of cysteine in living cells [J]. *Talanta*, 2019, 194:717-722.
- [4] MAURAS A J, WEERAPANA E. Reactive-cysteine profiling for drug discovery [J]. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2019, 50:29-36.
- [5] DOS SANTOS A P A, DA SILVA J K, NERI J M, *et al.* Nucleophilicity of cysteine and related biothiols and the development of fluorogenic probes and other applications [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2020, 18(46):9398-9427.
- [6] FENG B, LIU Y, HUANG S, *et al.* Highly selective discrimination of cysteine from glutathione and homo-cysteine with a novel AIE-ESIPT fluorescent probe [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2020, 325:128786.
- [7] APELAND T, HOLDAAS H, MANSOOR M A. Kidney donors and kidney transplants have abnormal aminothiols redox status, and are at increased risk of oxidative stress and reduced redox buffer capacity [J]. *Clin. Biochem.*, 2014, 47(6):378-382.
- [8] YU Y T, WANG J B, XIANG H, *et al.* A new near-infrared ratiometric fluorescent probe based on quinoline-fused rhodamine dye for sensitive detection of cysteine and homocysteine in mitochondria [J]. *Dyes Pigm.*, 2020, 183:108710.
- [9] BLACHIER F, BEAUMONT M, KIM E. Cysteine-derived hydrogen sulfide and gut health; a matter of endogenous or bacterial origin [J]. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2019, 22(1):68-75.
- [10] CALZETTA L, MATERA M G, ROGLIANI P, *et al.* Multifaceted activity of *N*-acetyl-l-cysteine in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Expert Rev. Respir. Med.*, 2018, 12(8):693-708.
- [11] ZHU M Q, FAN F G, ZHAO Z Y, *et al.* An ICT-based ratiometric fluorescent probe for cysteine and its application in biological issues [J]. *J. Mol. Liq.*, 2019, 296:111832.
- [12] CHEN X N, XU H, MA S N, *et al.* A simple two-photon turn-on fluorescent probe for the selective detection of cysteine based on a dual PeT/ICT mechanism [J]. *RSC Adv.*, 2018, 8(24):13388-13392.
- [13] JIAO S, HE X, XU L B, *et al.* A red-emitting fluorescence turn-on probe for the discrimination of cysteine from biothiols and its bioimaging applications in living cells [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2019, 290:47-52.
- [14] ZHAO L H, HE X, HUANG Y B, *et al.* A novel near-infrared fluorescent probe for intracellular detection of cysteine [J].

- Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, 412(26):7211-7217.
- [15] LI Y L, HE X, HUANG Y B, *et al.* Development of a water-soluble near-infrared fluorescent probe for endogenous cysteine imaging [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2020, 226:117544.
- [16] HE R K, ZHANG Y C, MADHU S, *et al.* BODIPY based realtime, reversible and targeted fluorescent probes for biothiol imaging in living cells [J]. *Chem. Commun.*, 2020, 56(93):14717-14720.
- [17] LIU Y N, YU Y N, ZHAO Q Y, *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, 427:213601.
- [18] YIN G X, YU T, GAN Y B, *et al.* A novel fluorescent probe with dual-sites for simultaneously monitoring metabolisms of cysteine in living cells and zebrafishes [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2020, 241:118602.
- [19] WANG S, ZHANG Q, CHEN S J, *et al.* A diazabenzopyrene derivative as ratiometric fluorescent probe for cysteine with super large Stokes shift [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, 412(11):2687-2696.
- [20] KAILASA S K, KATESHIYA M R, MALEK N I. Introduction of cellulose-cysteine Schiff base as a new ligand for the fabrication of blue fluorescent gold nanoclusters for the detection of indapamide drug [J]. *J. Mol. Liq.*, 2020, 319:114305.
- [21] 陈莉, 黎俊波, 陈社刚. 生物硫醇荧光探针的研究进展 [J]. *有机化学*, 2021, 41(2):611-623.
CHEN L, LI J B, CHEN D G. Recent advances in fluorescent probes for biothiols [J]. *Chin. J. Org. Chem.*, 2020, 41(2):611-623. (in Chinese)
- [22] 盛铭浩. 小分子生物硫醇荧光探针研究进展 [J]. *山东工业技术*, 2015(16):281.
SHENG M H. Research progress of fluorescent probes for small molecule biological thiols [J]. *Shandong Ind. Technol.*, 2015(16):281. (in Chinese)
- [23] DAS S, GHOSH A, KUNDU S, *et al.* Development of a new fluorescent probe for cysteine detection in processed food samples [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, 411(23):6203-6212.
- [24] XIA S, ZHANG Y B, FANG M X, *et al.* A FRET-based near-infrared fluorescent probe for ratiometric detection of cysteine in mitochondria [J]. *ChemBioChem*, 2019, 20(15):1986-1994.
- [25] ANUSUYADEVI K, WU S P, VELMATHI S. ES IPT triggered swift determination of cysteine in HeLa cell line during redox imbalance [J]. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, 2020, 403:112875.
- [26] HOJI A, MUHAMMAD T, WUBULIKASIMU M, *et al.* Syntheses of BODIPY-incorporated polymer nanoparticles with strong fluorescence and water compatibility [J]. *Eur. Polym. J.*, 2020, 141:110058.
- [27] BARATTUCCI A, SALERNO T M G, KOHNKE F H, *et al.* Curcumin-based sulfenic acid as a light switch for the binding of biothiols [J]. *New J. Chem.*, 2020, 44(45):19508-19514.
- [28] 魏雨菲, 于海川, 刘雪玲, 等. 姜黄主要化学成分及药理作用研究进展 [J]. *新乡医学院学报*, 2020, 37(10):990-995.
WEI Y F, YU H C, LIU X L, *et al.* Research progress on main chemical constituents and pharmacological effects of *Curcuma longa* [J]. *J. Xinxiang Med. Univ.*, 2020, 37(10):990-995. (in Chinese)
- [29] ZHANG X, TAN X Y, HU Y P. Blue/yellow emissive carbon dots coupled with curcumin: a hybrid sensor toward fluorescence turn-on detection of fluoride ion [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2021, 411:125184.
- [30] FANG Y Y, WANG M, SHEN Y R, *et al.* Highly sensitive and selective recognition behaviour for fluoride based on a homoditopic curcumin-difluoroboron receptor [J]. *Inorganica Chim. Acta*, 2020, 503:119413.



罗凡(1997 -),女,四川南充人,硕士研究生,2019年于成都中医药大学获得学士学位,主要从事荧光探针的设计合成及其性能的研究。
E-mail: 1737630090@qq.com



邓贇(1975 -),男,四川三台人,博士,研究员,博士研究生导师,2003年于中国科学院成都有机化学研究所获得博士学位,主要从事中药化学和天然产物化学的研究。
E-mail: dengyun@cdutcm.edu.cn