

文章编号: 1000-7032(2021)07-0938-15

# 单胺氧化酶荧光探针研究进展

王晓鹏<sup>1</sup>, 李永东<sup>1\*</sup>, 王建国<sup>2\*</sup>

(1. 赣南师范大学化学化工学院 江西省有机药物化学重点实验室, 江西 赣州 341000;

2. 内蒙古大学化学化工学院 内蒙古精细有机合成重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010021)

**摘要:** 单胺氧化酶(Monoamine oxidases, MAOs)是一种膜结合的线粒体酶,通过催化氧化及脱氨反应来维持神经递质和其他生物胺在生物系统中的稳态。MAOs 功能障碍与许多神经和精神疾病密切相关,因此,监测 MAOs 的活性及表达水平,对深入理解其生理功能及相关疾病的临床诊断都具有十分重要的意义。荧光探针具有原位、无创、可实时成像等优势,是准确监测 MAOs 活性的一种有效方法。本文综述了近年来 MAOs 荧光探针的研究进展,阐述了这些荧光探针在 MAOs 相关疾病诊断及治疗中的应用。

**关键词:** 单胺氧化酶; 荧光探针; 疾病诊断; 抑制剂; 生物成像

中图分类号: O482.31 文献标识码: A DOI: 10.37188/CJL.20210086

## Research Progress of Fluorescent Probes for Monoamine Oxidases

WANG Xiao-peng<sup>1</sup>, LI Yong-dong<sup>1\*</sup>, WANG Jian-guo<sup>2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Organo-pharmaceutical Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering,

Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China;

2. Inner Mongolia Key Laboratory of Fine Organic Synthesis, College of Chemistry and Chemical Engineering,

Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

\* Corresponding Authors, E-mail: ydli2005@gmail.com; wangjg@imu.edu.cn

**Abstract:** Monoamine oxidases (MAOs) are a family of membrane-bound mitochondrial enzymes that play important roles in maintaining the homeostasis of neurotransmitters and other bioamines in the biological system through catalytic oxidation and deamination. The dysfunction of MAOs is closely related to many neurological and psychiatric disorders. Thus, monitoring the activity/level of MAOs is of great significance for deeply understanding their physiological functions and for clinical diagnosis of MAOs-related diseases. Fluorescent probes with the ability of *in situ*, noninvasive and real-time imaging provide an effective method to accurately detect MAOs activity. In this review, the research progress of fluorescent probes for MAOs in recent years and their applications for the diagnosis and therapy of MAOs-related diseases are reviewed.

**Key words:** monoamine oxidase; fluorescent probes; disease diagnosis; inhibitor; bioimaging

收稿日期: 2021-03-12; 修订日期: 2021-04-02

基金项目: 国家自然科学基金(21871060); 内蒙古自治区自然科学基金(2020JQ02, 2020MS02004); 江西省自然科学基金(20192BCBL23013); 内蒙古自治区草原英才项目资助

Supported by National Natural Science Foundation of China(21871060); Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region of China(2020JQ02, 2020MS02004); Natural Science Foundation of Jiangxi Province(20192BCBL23013); Grassland Talent Program of Inner Mongolia Autonomous Region of China

## 1 引言

单胺氧化酶(MAOs)是一类黄素酶,主要在线粒体外膜上分布,可催化胺类底物氧化成酮或醛,并产生过氧化氢和氨作为副产物<sup>[1-3]</sup>。MAOs有两种亚型:MAO-A和MAO-B。它们虽然有70%的序列同源性<sup>[4-7]</sup>,但在许多方面存在差异,包括在细胞和组织中的分布、底物的特异性以及功能上的差异。MAO-A主要分布于儿茶酚胺能神经元,代谢多种不同的神经递质,并可被氯吉兰(Clorgyline, CL)选择性抑制(图1)。MAO-B主要存在于星形胶质细胞(某些情况下还存在于血清素能神经元中),作用于多巴胺(DA)和 $\beta$ -苯乙胺,可被优降宁(Pargyline, PA)、雷沙吉兰(Rasagiline, RA)、司来吉兰(Selegiline, SE)选择性抑制。虽然MAO-A和MAO-B对不同底物的选择性和特异性不同,但是它们在维持生物胺代谢稳态中共同发挥着至关重要的作用。MAOs的过度激活会增加神经毒性化合物的产生。MAOs功能障碍可引起阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)等多种神经和精神疾病<sup>[8-14]</sup>。因此,设计开发可靠的、特异性检测这两种同工酶的方法对于深入理解它们在生物系统中的功能及MAOs相关疾病的临床诊断和治疗都具有重要意义。

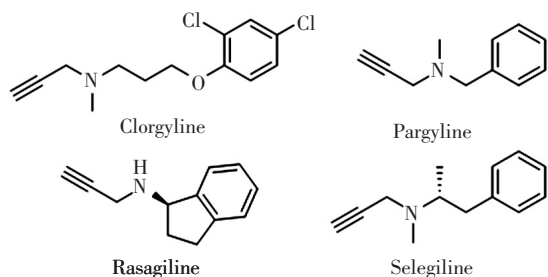


图1 几种常见的单胺氧化酶抑制剂

Fig. 1 Common inhibitors for MAOs

迄今为止,科学家已经建立了多种检测MAOs活性的方法,如光谱法、生物发光法、酶联免疫分析法、放射性标记法及荧光探针法等<sup>[15-18]</sup>。其中,荧光探针法具有检测成本低、方便快捷、特异性强、灵敏度高、非侵入性等优点,非常适用于对活细胞或活体小动物中的生物酶进行实时无损成像<sup>[19-24]</sup>。目前,MAOs荧光探针的开发已经取得了非常多的成果,根据其作用机制,我

们把这些荧光探针分为结合型和反应型两大类,如图2所示。本篇综述对这两大类用于检测MAOs的荧光探针进行了系统详细的介绍,阐述了其在MAOs相关疾病诊断和治疗中的应用,并进一步对MAOs荧光探针的发展前景进行了展望。

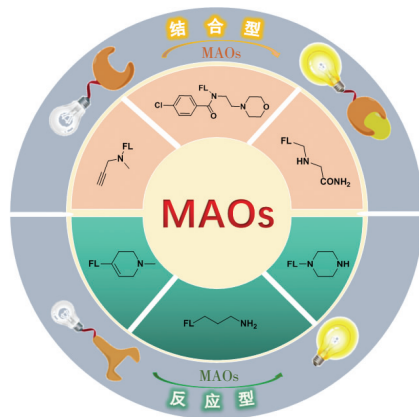


图2 单胺氧化酶荧光探针示意图

Fig. 2 Schematic diagram of fluorescent probes for monoamine oxidase

## 2 单胺氧化酶荧光探针

### 2.1 结合型单胺氧化酶荧光探针

结合型单胺氧化酶荧光探针一般是根据酶的抑制剂或天然底物与单胺氧化酶的高亲和力设计而成的,一般包括三部分:(1)能够通过共价键或非共价键与单胺氧化酶的活性位点作用的结合基团;(2)可视化的荧光基团;(3)防止荧光基团在酶的活性位点产生较大位阻效应的链接基团。2012年,朱劭课题组<sup>[25]</sup>将2-烷氨基乙酰胺引入荧光素中合成了一个结合型单胺氧化酶荧光探针**1**,为了使荧光素远离MAOs结合位点,他们在荧光素部分和2-烷氨基乙酰胺之间引入了一个长度为6个碳原子的烷基链。探针**1**可有效与MAO-A和MAO-B结合,并抑制其活性, $I_{C_{50}}$ (酶活性被抑制一半时的抑制剂浓度)值分别为35.1  $\mu\text{mol/L}$ 和150.8  $\mu\text{mol/L}$ 。探针**1**可用于在活细胞内标记MAOs,在细胞内产生明显的荧光发射。如图3所示,探针**1**对MAOs的标记过程主要分为三步:(1)2-烷氨基乙酰胺与MAOs结合形成稳定的化合物b;(2)在碱的作用下,被活化的黄素(Flavin)促使b发生氧化脱氨反应,生成亚胺基化合物c;(3)化合物c被亲核性的巯基进攻生成

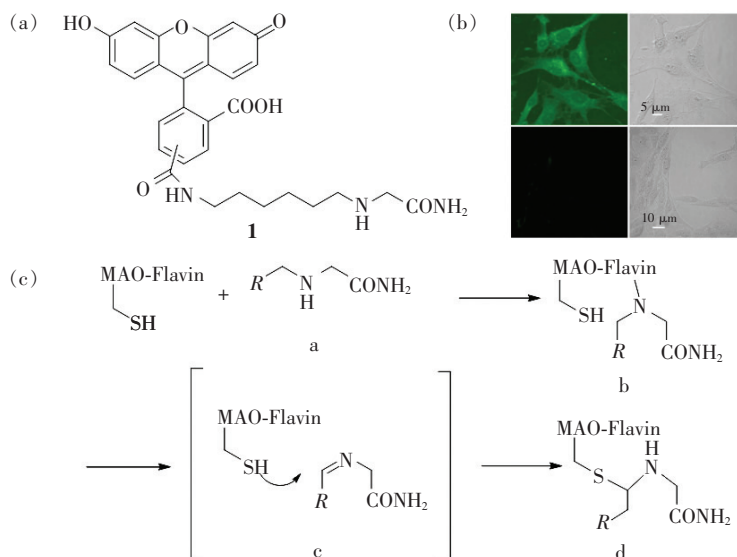


图 3 (a) 探针 **1** 的结构; (b) 探针 **1** 在 MCF-7 细胞中的荧光成像; (c) 探针 **1** 共价键合标记 MAO 的机理。

Fig. 3 (a) Structure of the probe **1**. (b) Fluorescence microscopy of MCF-7 cells stained with probe **1**. (c) Proposed mechanism of covalent labeling of MAO with reaction-based fluorescent probe **1**.

d. 荧光探针 **1** 可以非常方便地对 MAOs 进行荧光成像, 并且也是监控 MAOs 相关疾病进程的一个非常有前景的选择。

同年, Breinbauer 等<sup>[26]</sup> 根据 MAOs 抑制剂优降宁和司来吉兰的结构设计合成了一系列结合型 MAOs 荧光探针 **2~7** (P1-P6), 如图 4 所示。体外实验结果表明, 含甲基取代的叔胺结构的探针 **2, 4, 6** 能够有效地与 MAOs 结合, 而不含甲基取代的叔胺结构的 **3, 5, 7**

对 MAOs 的标记能力很弱。标记的机理是: 探针 **2, 4, 6** 叔胺结构的 N 可被 MAOs 氧化, 进而辅酶 FAD 中的 N 原子可与氧化的探针发生 Michael 加成反应, 实现探针对 MAOs 的标记。探针 **2** 和 **4** 可用于研究活细胞或组织中 MAOs 的蛋白质活性表达谱, 因其出色的选择性有望用于研究临床药物司来吉兰的脱靶作用。这是文献报道的第一个可用于标记蛋白质活性表达谱的结合型小分子荧光探针。

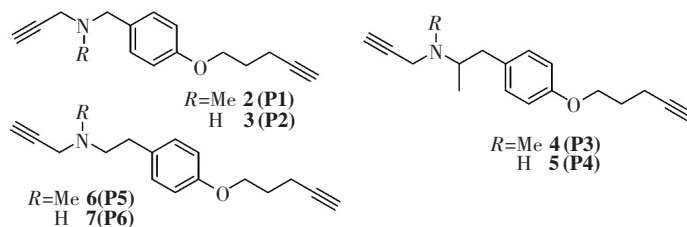


图 4 探针 **2~7** 的结构

Fig. 4 Structures of the probe **2-7**

内源性 MAO-A 表达量比较高时, 探针 **4** 对 MAO-B 的特异性较弱。另外, 探针 **4** 虽然能够穿透细胞膜进入细胞, 但是其发光波长较短, 并不适合在细胞或者组织中对 MAOs 进行荧光成像。2015 年, 新加坡国立大学姚少钦<sup>[27]</sup> 课题组首次报道了兼具蛋白质表达谱原位标记和活细胞内 MAO-B 荧光成像能力的小分子荧光探针 **8** (M2), 如图 5(a) 所示。探针 **8** 对 MAO-B 具有较强的特异性, 即使在 MAO-A 过表达的情况下, 也能保持

对 MAO-B 的高特异性, 探针 **8** 对 MAO-B 和 MAO-A 的  $I_{C_{50}}$  分别为 10.8 nmol/L 和 379 nmol/L。探针 **8** 可采用原位标记蛋白质表达谱或活细胞成像的方式报告内源性 MAO-B 的活性, 并且能够用于揭示帕金森病动物模型中 MAO-B 表达水平与多巴胺能神经元内稳态之间的关系。

开发具有肿瘤靶向能力的高效抗癌试剂是现代肿瘤学研究的重要方向之一。近期研究表明, MAO-A 水平升高与前列腺癌患者预后较差具

有一定的相关性。MAO-A 可诱导上皮间质转化, 并通过产生大量的活性氧物种(ROS)放大肿瘤的乏氧效应<sup>[28-31]</sup>。因此, 开发能够特异性地靶向肿瘤组织的 MAO-A 抑制剂对于这类癌症患者具有重要的意义。Shih 等<sup>[32]</sup>将 MAO-A 抑制剂氯吉兰共价键合到近红外花菁染料上, 合成了一个兼具荧光成像和抗癌能力的荧光探针 **9** (NMI), 如图 5(b) ~ (d) 所示。探针 **9** 可抑制 MAO-A 的活性,  $I_{C_{50}}$  值为  $(3.8 \pm 0.3) \mu\text{mol/L}$ , 可抑制前列腺癌细胞增殖及集落形成, 降低转移率和侵袭性。在小鼠前列腺癌异种移植瘤中, 探针 **9** 可靶向肿瘤, 而不在正常组织中富集, 可有效降低肿瘤负荷。通过分析发现, 肿瘤标本中 Ki-67<sup>+</sup> 细胞和 CD31<sup>+</sup> 细胞明显减少, 说明癌细胞增殖和血管生成变慢, 同时肿瘤样本中 M30<sup>+</sup> 细胞增多, 说明细胞凋亡加快。这使得探针 **9** 成为一种诊断和治疗前列腺癌的新药物。

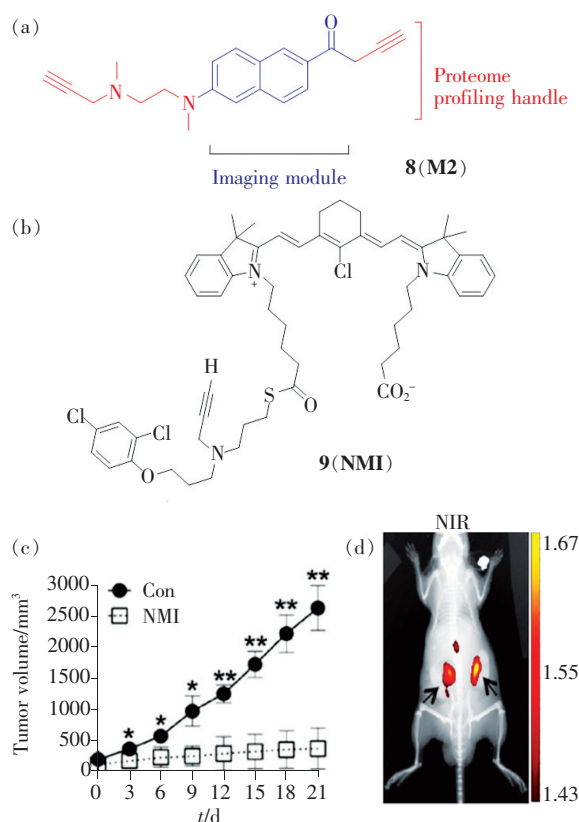


图 5 (a) 探针 **8** 的结构; (b) 探针 **9** 的结构; (c) 探针 **9** 对 C4-2B 前列腺癌荷瘤小鼠肿瘤的治疗效果; (d) 探针 **9** 在荷瘤小鼠体内前列腺肿瘤的近红外荧光成像。

Fig. 5 (a) Structure of the probe **8**. (b) Structure of the probe **9**. (c) **9** inhibits the growth of C4-2B tumor xenografts in mice. (d) NIR fluorescence imaging of probe **9** *in vivo*.

聚集诱导发光 (Aggregation-induced emission, AIE) 概念自 2001 年提出以来, 受到了人们的广泛关注, 近年来更是取得了长足的进展。AIE 分子具有在溶液中不发光, 而在聚集态或固态时具有强发光的独特发光性质, 可有效解决传统发光团因聚集导致的荧光猝灭 (Aggregation-caused quenching, ACQ) 问题。此外, AIE 分子通常还具有发光强、光稳定性好及 Stokes 位移大等性质, 因此, AIE 材料已经在化学/生物传感<sup>[33]</sup>、生物成像<sup>[34-36]</sup>、工程材料等领域<sup>[37-47]</sup> 取得了丰富的研究进展。其中, 四苯乙烯 (TPE) 更是作为 AIE 材料的明星分子被广泛研究。具有 AIE 性质的荧光团 (AIEgens) 已经成为开发新型生物传感器的一个强大而通用的平台。朱劭课题组联合新加坡国立大学刘斌教授团队<sup>[48]</sup> 设计并合成了一系列基于 TPE 的荧光探针, 用于检测 MAOs, 如图 6 所示。这些探针是基于探针与蛋白质之间的特定相互作用而设计的, N-甲基苯基吡啶及其类似物是 MAO-A 和 MAO-B 的抑制剂, 对 MAO-A 和 MAO-B 都有很高的亲和力, TPE 作为 4-位苯基吡啶的大取代基, 有望使探针对 MAO-A 有更强的选择性。在所开发的 6 种探针中, 探针 **11** 在加入 MAOs 后显示出明显的荧光增强, 并对 MAO-A 表现出较高的特异性。探针 **11** 可作为 MAO-A 的非竞争抑制剂,  $K_i$  (抑制常数) 值为  $17.1 \mu\text{mol/L}$ 。并且, 探针 **11** 可以靶向线粒体, 特异性地监控 MCF-7 细胞中的 MAO-A 活性。

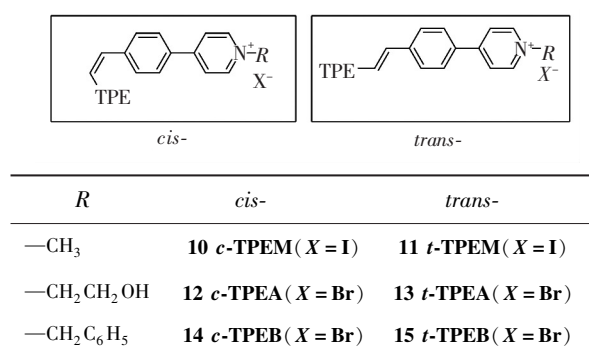


图 6 AIE 型 MAO 荧光探针 **10** ~ **15** 的结构

Fig. 6 Structures of the AIE-active fluorescent probes **10** ~ **15** for MAOs

双光子荧光成像技术因其深的组织穿透深度可有效提高成像质量, 其近红外较弱的激发能量也能有效地降低不必要的组织损伤。2019 年, Kim 等<sup>[49]</sup> 设计合成了一个双光子结合型 MAOs



荧光探针 **16** (PCP-1), 如图 7 所示。他们将 MAO-A 选择性抑制剂吗氯贝胺 (moclobemide) 共价键合到双光子荧光团上, 以此来提高成像时的激发光穿透深度。探针 **16** 可特异性地与前列腺癌中过表达的 MAO-A 结合, 产生强荧光发射, 由此可

区分 MAO-A 过表达的前列腺癌细胞和其他 MAO-A 低表达的癌细胞。同时, 通过抑制 MAO-A 的活性, 探针 **16** 可以有效抑制前列腺癌细胞的生长、增殖及转移, 非常有望作为进一步的体内成像试剂, 设计成靶向前列腺癌治疗药物。

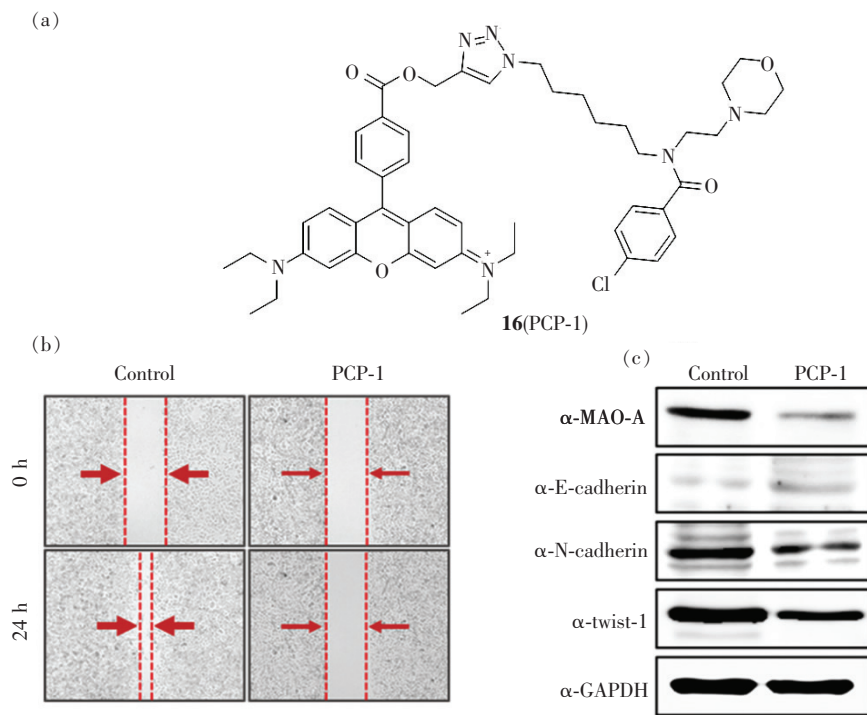


图 7 (a) 探针 **16** 的结构; (b) 探针 **16** 孵育 LNCap 细胞后细胞迁移 24 h 后的结果; (c) Western blot 法分析探针 **16** 处理后的上皮向间质转化 (EMT) 相关标志物 E-cadherin、N-cadherin 和 Twist-1 的表达情况。

Fig. 7 (a) Structure of the probe **16**. (b) Cell migration assay in LNCap cells incubated with the probe **16** and then the images were obtained for 24 h. (c) Expression of the epithelial to mesenchymal transition (EMT)-related markers, E-cadherin, N-cadherin, and Twist-1 were observed after **16** treatment using Western blot assay.

## 2.2 反应型单胺氧化酶荧光探针

结合型 MAOs 荧光探针在应用于活体成像时往往难以准确设计“点亮型”探针, 因此, 研究相对较少, 发展也相对缓慢。而相对于结合型 MAOs 荧光探针, 反应型 MAOs 荧光探针则能从根本上克服这一缺陷。反应型 MAOs 荧光探针通常是根据 MAOs 与底物的特异性催化反应来设计的。将酶特异性的底物与荧光发色团共价键合, 当 MAOs 与荧光探针的底物部分反应后, 导致探针结构改变, 就能够有效地引起荧光团的发光颜色或强度变化, 从而起到检测和监控酶活性的作用。

早在 20 世纪末, 科学家们就利用 MAOs 与底物的特异性反应设计合成了能够检测 MAOs 的荧光探针, 如图 8 (a) 所示。1996 年, Silverman 等<sup>[50]</sup>报道了利用 E-2,5-二甲氧基桂皮胺盐酸盐 (探针

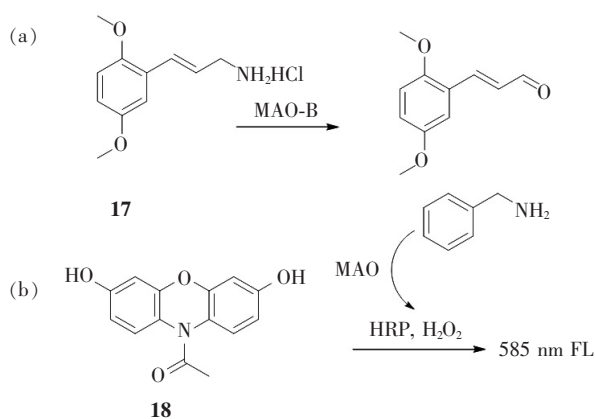


图 8 探针 **17** (a) 和 **18** (b) 对 MAO-B 的响应机制  
Fig. 8 Response mechanism of the probe **17** (a) and **18** (b) MAOs

**17**) 来直接检测 MAO-B 的活性, 探针 **17** 具有强荧光, 在 MAO-B 的氧化作用下, 氨基被氧化为醛基, 荧光减弱, 因此可以通过连续监测荧光强度随时

间的减弱来快速有效地测定 MAO-B 的活性。1997 年, Panchuk-Voloshina 等<sup>[51]</sup>采用一种间接的方法来检测 MAOs 的活性, 如图 8(b) 所示, 他们利用商业化过氧化氢荧光探针 **18** (Amplex<sup>®</sup> Red) 在辣根过氧化物酶 (HRP) 存在的条件下通过监控 MAOs 催化氧化苯乙胺生成的双氧水副产物的方法来间接测定 MAOs 的活性, 这种方法可检测低至  $1.2 \times 10^{-5}$  U/mL 的 MAO-B, 并可在牛脑组织匀浆中检测 MAO-A 和 MAO-B。然而, 探针 **17** 的激发和发射波长太短, 无法避免生物组织自发荧光的干扰, 而后者为间接测定法。因此, 这两种方法均不适用于活细胞或活体组织、小动物中 MAOs 的检测。

为了扩展 MAOs 荧光探针的应用范围, 21 世纪初以来, 科学家们进行了大量的探索和不断的努力, 成功开发了众多性能优异的 MAOs 荧光探针, 不断延长其激发和发射波长, 并将其用于更为复杂的生物体系中。本研究进展中, 我们根据这些探针对 MAO-A 和 MAO-B 的特异性进行分类详细介绍。

### 2.2.1 检测 MAOs 总量的荧光探针

相较于能够特异性检测 MAO-A 或 MAO-B 的荧光探针, 能够检测 MAOs 总量的荧光探针设计更为简单方便, 并且也更容易商业化。2007 年, Chang 课题组<sup>[52]</sup>根据 MAOs 氧化氨基及随后的  $\beta$ -消除反应设计合成了两个反应型 MAOs 荧光探针 **19** 和 **20**, 如图 9(a) 所示。探针 **19** 和 **20** 的激发和发射均位于可见光区域, 与 MAOs 反应后, 荧光大幅增强, 因此可用于活细胞内 MAOs 的检测。

为了避免细胞和组织自发荧光的干扰, 2010 年, Xing 课题组<sup>[53]</sup>基于 6-氯-2-(5-氯-2-羟基苯基)-4(3H)-喹唑酮 (HPQ) 衍生物设计合成了一系列反应型 MAOs 荧光探针 **21** ~ **23**, 如图 9(b) 所示。HPQ 衍生物一般不溶于水, 在固态具有较强的荧光, 具有较大的 Stokes 位移 (110 nm), 能够有效避免细胞和组织自身发光的干扰, 因此备受关注。该课题组将氨基基团共价键合到 HPQ 分子中 2-羟基上, 有效地猝灭了 HPQ 分子的荧光。当 MAOs 与探针反应后, 氨基被氧化并随后发生自发的  $\beta$ -消除反应, 生成绿色荧光的 HPQ 沉淀物, 可用于活细胞或组织内 MAOs 的实时荧光检测。

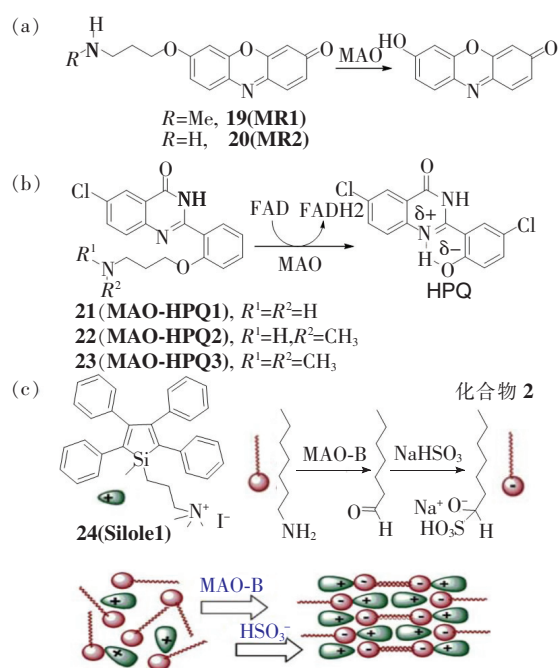


图9 (a) 探针 **19** 和 **20** 的结构及其对 MAO 的响应机制; (b) 探针 **21** ~ **23** 的结构以及对 MAOs 的响应机制; (c) 探针 **24** 对 MAOs 的响应机制。

Fig. 9 (a) Structure of the probe **19** - **20** and their response mechanism to MAOs. (b) Structure of the probe **21** - **23** and their response mechanism to MAOs. (c) Response mechanism of the probe **24** to MAOs.

张德清课题组<sup>[54]</sup>设计合成了具有 AIE 特性的反应型 MAOs 荧光探针 **24**, 如图 9(b) 所示。庚胺在 MAOs 的作用下被转化为庚醛, 庚醛与  $HSO_3^-$  反应可生成中间体 (化合物 2), 而探针 **24** 可在中间体诱导下发生聚集, 从而荧光增强。该体系对 MAO-B 的检测限为  $0.25 \mu\text{g/mL}$ , 可用于 MAO-B 活性分析及相关抑制剂筛选。然而, 该体系不能用于活细胞或组织内 MAOs 活性的实时监测。

朱勃课题组联合新加坡国立大学姚少钦课题组<sup>[55]</sup>报道了第一个基于荧光共振能量转移机制 (FRET) 设计的反应型 MAOs 小分子探针 **25a** 和 **25b**, 如图 10 所示。该体系选用荧光素作为 FRET 的给体单元, 选用具有长发射波长的 Cy3 作为能量受体单元, 分别选用 1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶及 3-氨基丙基作为 MAOs 的响应单元。实验结果表明, 探针 **25a** 对 MAOs 的响应更加灵敏, 并成功用于活细胞中 MAOs 活性的检测。同年, 朱勃课题组<sup>[56]</sup>还设计合成了另外一系列荧光素 MAOs 荧光探针 **26a** ~ **26d**, 如图 10 所示。其中 **26a**

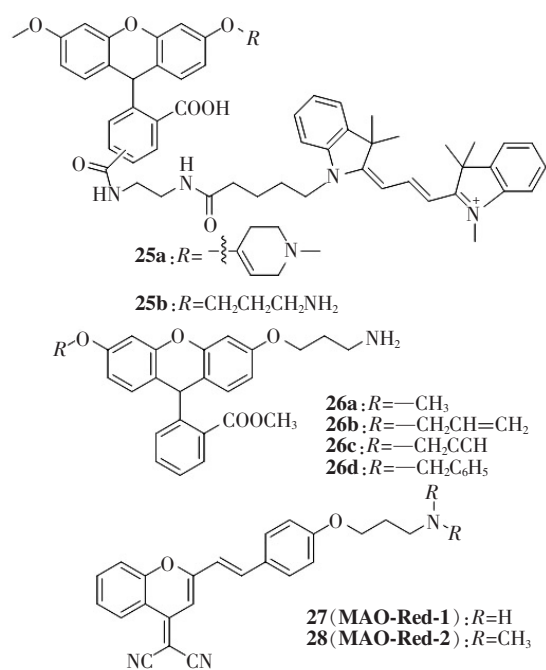


图 10 探针 25 ~ 28 的结构

Fig. 10 Structures of the probe 25 – 28

显示对 MAOs 的高活性,并可用于活细胞内 MAOs 的活性检测。

发射波长位于 650 nm 以上的近红外荧光探针能够有效避免生物组织自发荧光的干扰,降低光对细胞和组织的损伤作用,并增加组织穿透深度。为此,2016 年, Li 等<sup>[57]</sup>设计合成了两个具有近红外发射的 MAOs 荧光探针 **27** 和 **28**, 如图 10 所示。这两个探针对 MAOs 都具有较高的灵敏度和特异性, Stokes 位移可达 227 nm, 其中探针 **27** 对 MAO-B 响应的检测限为 1.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。并且 **27** 具有低细胞毒性, 可用于检测 HeLa 细胞和 HepG2 细胞内 MAOs 的活性。

近年来,随着 MAOs 荧光探针技术的不断进步,人们越来越多地运用荧光成像来直观地观察和研究 MAOs 与相关疾病的形成过程。2016 年, Ahn 课题组<sup>[58]</sup>利用双光子荧光探针 **29** 研究帕金森综合症中 A $\beta$  斑块的形成, 监控帕金森综合症的进展过程。如图 11 所示, 探针 **29** 可同时监测患帕金森综合症小

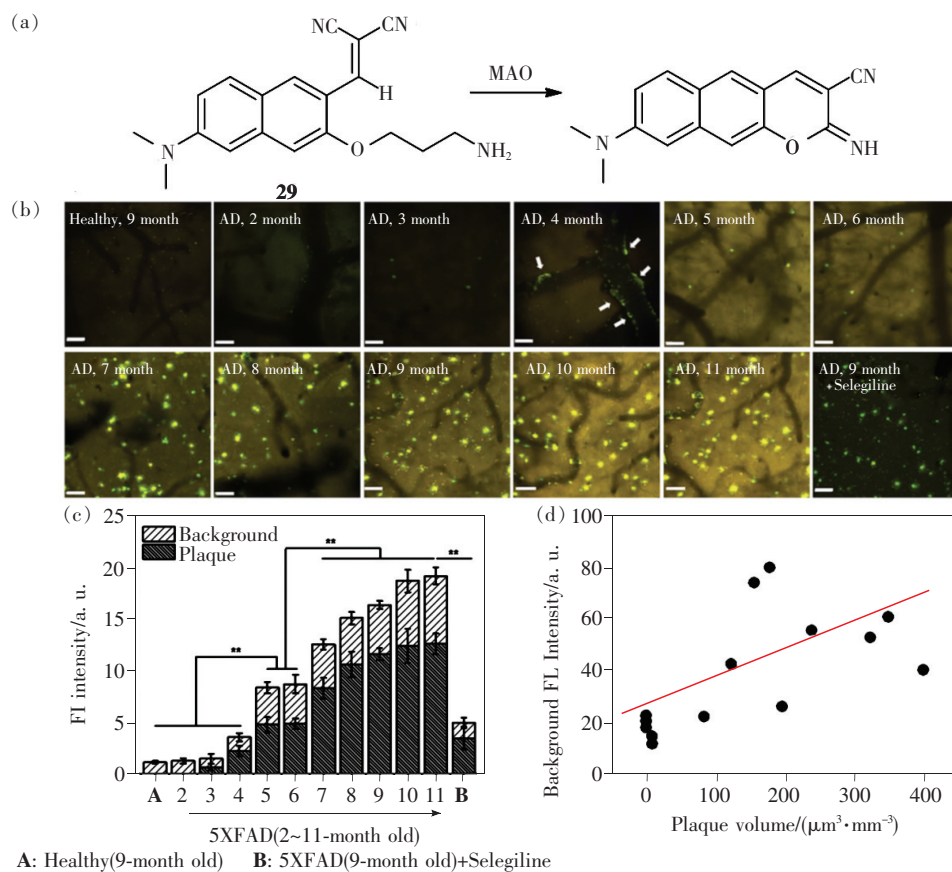


图 11 (a) 探针 **29** 的结构及其对 MAOs 的响应机制; (b) 转基因小鼠和健康小鼠额皮质区荧光成像; (c) 图 (b) 中 A $\beta$  斑块及背景的平均发光强度关系图; (d) 背景荧光强度与斑块体积关系图。

Fig. 11 (a) Structure of the probe **29** and its response mechanism to MAOs. (b) *In vivo* fluorescence images of the frontal cortex region of transgenic and healthy mice. (c) Plots of the average fluorescence intensity of A $\beta$  plaques and background images in panel (b), respectively. (d) A plot of the background fluorescence intensity versus the plaque volume.



鼠脑部 MAOs 的水平及 A $\beta$  斑块形成之间的关系。实验结果表明,随着小鼠鼠龄的增加,小鼠脑部 A $\beta$  斑块中及斑块外部的荧光强度均不断增强,表明小鼠帕金森综合症主要经历 3 个进程:从出生到三月龄的缓慢启动阶段、随后的侵袭阶段及 9 月龄后的饱和阶段。该探针解释了 MAOs 水平与小鼠帕金森综合症进展之间的密切关系,进一步证明 MAOs 可作为帕金森综合症的生物标

志物。

2019 年,湖南大学张晓兵课题组<sup>[59]</sup>设计合成了一种“双重锁定”的分子探针 **30**(NML)用于精确成像及肝病区分,如图 12 所示,探针 **30** 的第一把钥匙是亮氨酸氨肽酶(LAP),第二把钥匙是 MAOs。只有当两把钥匙同时存在,相继与探针 **30** 反应后才能释放出强荧光的 NF。与单重锁定的探针相比,探针 **30** 在药物诱导肝脏损伤的荧光

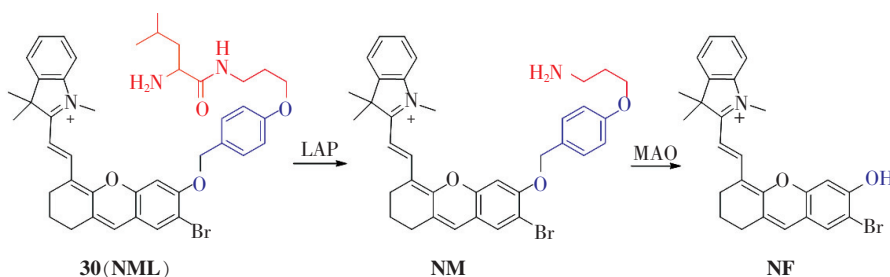


图 12 探针 **30** 的结构及其对 MAOs 的响应机制

Fig. 12 Structure of the probe **30** and the response mechanism to MAOs

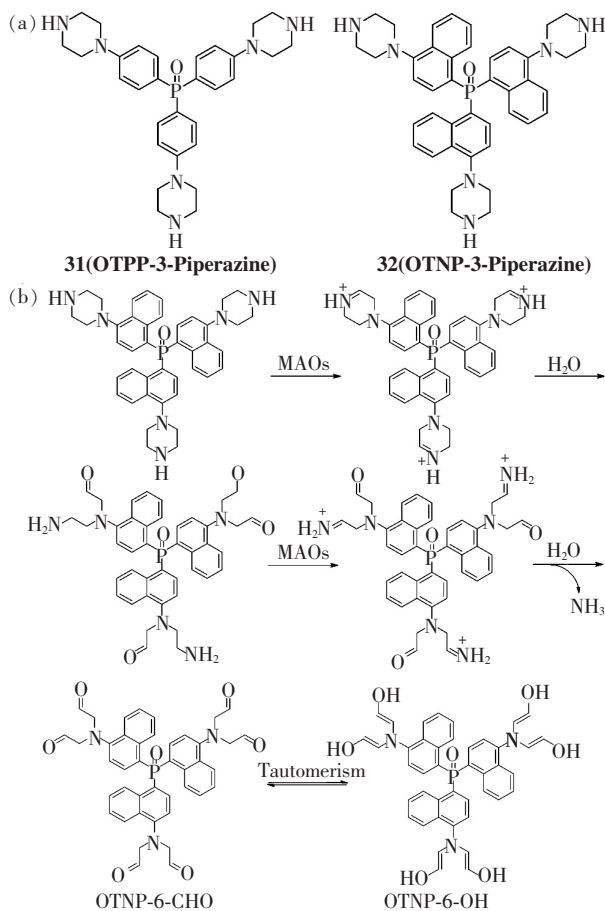


图 13 (a) 探针 **31** 和 **32** 的结构;(b) 探针 **32** 对 MAOs 的识别机理。

Fig. 13 (a) Structures of the probe **31** and **32**. (b) Response mechanism of the probe **32** to MAOs.

成像中表现出更高的准确性。血清测定结果显示,探针 **30** 在小鼠模型中能有效区分药物诱导肝脏损伤及 CCl<sub>4</sub> 导致的肝硬化。并且,探针 **30** 还能用于准确区分不同肝病患者的血清样本,在不同肝脏疾病的诊断中具有广阔的应用前景。

前述反应型 MAOs 荧光探针大多是采用 3-氨基丙基或 1-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶作为响应基团的。2020 年,川北医学院的刘军课题组<sup>[60]</sup>设计合成了以哌嗪为响应基团的反应型 MAOs 荧光探针 **31** 和 **32**,如图 13 所示。其中探针 **32** 对 MAOs 的响应更灵敏,并且可实时响应,不需要孵育,如此迅速的响应使得该探针显示出比以往报道的 MAOs 荧光探针独特的优越性。同年,该课题组<sup>[61]</sup>基于对 MAOs 类似的检测机理,还设计合成了三芳基硼烷类 MAOs 双光子荧光探针 **33** ~ **35**,如图 14 所示。其中探针 **34** 对 MAOs 的响应最佳,并可区分 MAOs 过表达的癌细胞与 MAOs 低表达的其他细胞。

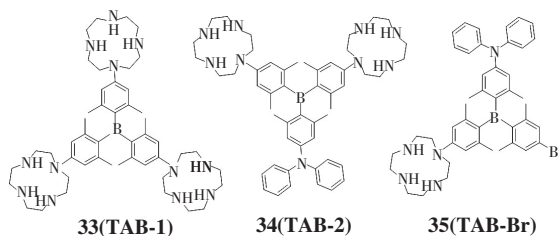


图 14 探针 **33** ~ **35** 的结构

Fig. 14 Structures of the probe **33** - **35**



### 2.2.2 特异性检测 MAO-A 的荧光探针

MAO-A 和 MAO-B 虽然都与神经退行性疾病、发育性残疾及严重智力障碍有关,但是它们的序列并不完全一致,在细胞及组织中的分布不同,底物及抑制剂不同。为了进一步明确 MAO-A 和 MAO-B 的功能差异及其在相关疾病中所起的作用,非常有必要开发特异性监测 MAO-A 或 MAO-B 的荧光探针。

2016 年,中科院化学所马会民课题组<sup>[62]</sup>首次报道了特异性识别 MAO-A 的比率型荧光探针 **36a** 和 **36b**,如图 15 所示。该体系采用氨基丙基作为 MAO-A 的响应基团,具有比率型荧光变化的蔡二甲酰亚胺作为荧光基团,探针 **36a** 和 **36b** 与 MAO-A 作用后可产生蓝色荧光到绿色荧光的比率变化,对 MAO-B 基本不响应。**36a** 和 **36b** 对 MAO-A 的检测限分别为 1.1 ng/mL 和 10 ng/mL。该课题组通过分子对接研究了探针 **36a** 对 MAO-A 及 MAO-B 的亲合力,结果表明探针 **36a** 与 MAO-A 对接打分值( $-\lg K_d$ )比 MAO-B 高近一倍,说明探针 **36a** 与 MAO-A 的结合比 MAO-B 强,并且探针 **36a** 与 MAO-A 存在潜在的氢键作用。鉴于其对 MAO-A 具有更好的灵敏度,探针 **36a** 可用于实时检测 HeLa 细胞和 NIH-3T3 细胞中 MAO-A 的表达水平。实验结果表明,HeLa 细胞中 MAO-A 的表达水平比 NIH-3T3

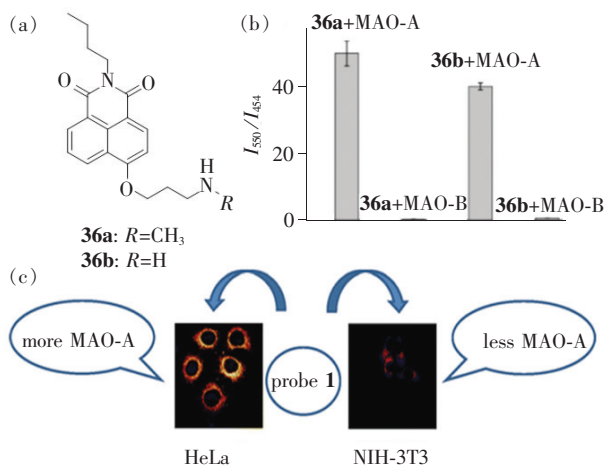


图 15 (a) 探针 **36a** 和 **36b** 的结构;(b) 探针 **36a** 和 **36b** 对 MAOs 响应后的荧光比率变化;(c) 探针 **36a** 在 HeLa 和 NIH-3T3 细胞中的荧光成像。

Fig. 15 (a) Structures of the probe **36a** and **36b**. (b) Ratio changes of fluorescence intensity of probe **36a** and **36b** upon reaction with MAO-A and MAO-B. (c) Fluorescence images of probe **36a** in HeLa cells and NIH-3T3.

细胞中 MAO-A 表达水平高 1.8 倍,与商业化 ELISA 试剂盒所得结果一致。

2017 年,该课题组<sup>[63]</sup>根据 MAO-A 抑制剂氯吉兰的结构进一步设计合成了能够特异性检测 MAO-A 的荧光探针 **37** ~ **42**。如图 16 所示,探针 **39** 和 **40** 表现出对 MAO-A 的高特异性响应,对 MAO-A 和 MAO-B 的响应比分别为 42 和 41 倍。探针 **39** 可用于区分 MAO-A 高表达的 SH-SY5Y 细胞和 MAO-B 高表达的 HepG2 细胞。2021 年,该课题组<sup>[64]</sup>根据类似的思路开发了两种水溶性近红外荧光探针 **43** 和 **44**,其发射达到了 708 nm,可以特异性识别 MAO-A。其中探针 **43** 检测限为 4.5 ng/mL,对 MAO-A 的特异性是 MAO-B 的 13 倍。探针 **43** 已成功应用于细胞、斑马鱼和荷瘤小鼠中 MAO-A 荧光成像,在肿瘤 MAO-A 的活性研究中展示出广阔的应用前景。

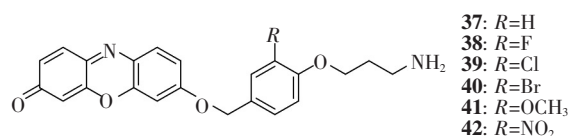


图 16 探针 **37** ~ **42** 的结构

Fig. 16 Structures of the probe **37** - **42**

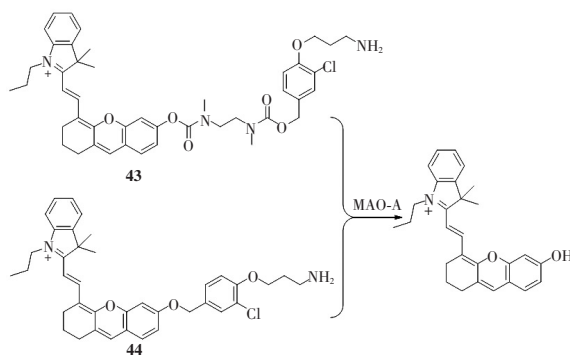


图 17 探针 **43** ~ **44** 的结构及对 MAO-A 的响应机制

Fig. 17 Structures of the probe **43** - **44** and the response mechanism to MAO-A

随后,广西师范大学的覃江克和李俊课题组<sup>[65]</sup>根据相似的设计思路,开发了特异性响应 MAO-A 的近红外荧光探针 **45** ~ **50**。如图 18 所示,这类探针结构中  $R$  基团与其对 MAOs 的选择性具有至关重要的作用,当  $R$  基团为 Cl 时,探针的靶向单元与 MAO-A 特异性抑制剂氯吉兰的结构非常类似,因此探针 **47** 对 MAO-A 具有特异性响应。探针 **46** 和 **48** 分别将  $R$  基团改为 F 和 Br,结构仍与氯吉兰相近,因此探针 **46** 和 **48** 也表现

出对 MAO-A 的特异性。而探针 **45** 的 R 基团为 H, 对两种 MAOs 均有响应。探针 **49** 和 **50** 的 R 基团为甲基和甲氧基, 可能由于空间位阻过大, 导致这两个探针对于 MAOs 均不响应。探针 **47** 成功用于斑马鱼及荷瘤小鼠肿瘤部位 MAO-A 的实时荧光成像, 将成为深入了解 MAO-A 生理功能的新工具。同年, 该课题组<sup>[66]</sup> 又进一步发展了可靶向线粒体的 MAO-A 特异性近红外荧光探针 **51**, 如图 19(a) 所示。探针 **51** 除了具有对斑马鱼和荷瘤小鼠中 MAO-A 特异性实时成像能力外, 还首次用于检测肝脏纤维化组织中 MAO-A 的活性, 有望用作肝脏疾病的新型诊断工具。

2020 年, 南京工业大学的李林<sup>[67]</sup> 联合新加坡国立大学姚少钦和西北工业大学的黄维课题组设计开发了用于 MAO-A 特异性检测的双光子荧光探针 **52**, 如图 19(b) 所示。探针 **52** 的双光子性质使其可用于多种生物样本中 MAO-A 的特异性

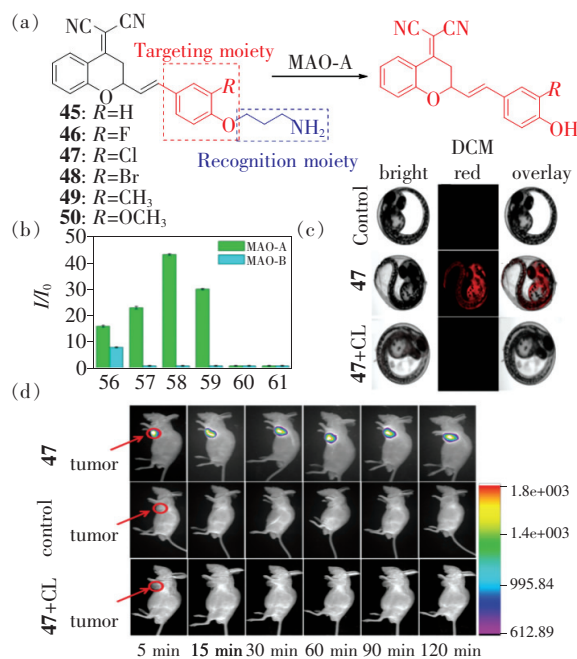


图 18 (a) 探针 **45** ~ **50** 的结构和对 MAO-A 的响应过程; (b) 探针 **45** ~ **50** 对 MAOs 响应的荧光强度变化; (c) 探针 **47** 在斑马鱼中的荧光成像; (d) 探针 **47** 在小鼠肿瘤中的荧光成像。

Fig. 18 (a) Structures of the probe **45** – **50** and their response to MAO-A. (b) Ratio of fluorescence intensity of probe **45** – **50** to MAOs. (c) Fluorescence images of MAO-A with probe **47** in 3 day-old zebrafish larvae. (d) *In vivo* fluorescence images of MAO-A activity in tumor-bearing nude mice by probe **47**.

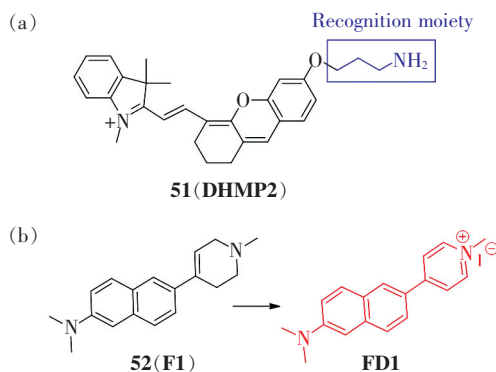


图 19 (a) 探针 **51** 的结构; (b) 探针 **52** 的结构及响应机制。

Fig. 19 (a) Structure of the probe **51**. (b) Structure of the probe **52** and the response mechanism.

荧光检测, 如 MAO-A 高表达的 SY-SY5Y 细胞、荷瘤小鼠及人胶质瘤组织等。

### 2.2.3 特异性检测 MAO-B 的荧光探针

MAO-B 是 MAOs 的另一个亚型, 通常用作药物开发的靶标。2012 年, 朱勃课题组<sup>[68]</sup> 利用 MAO-B 特异性的  $\alpha$ -C—O 键的氧化断裂策略设计合成了一系列 MAOs 荧光探针 **53a** ~ **53c**, 如图 20 所示。其中探针 **53a** 对 MAO-B 的响应比 MAO-A 高出 22 倍。随后, 该课题组利用相同的策略设计合成<sup>[69]</sup> 了一系列 MAO-B 特异性的荧光

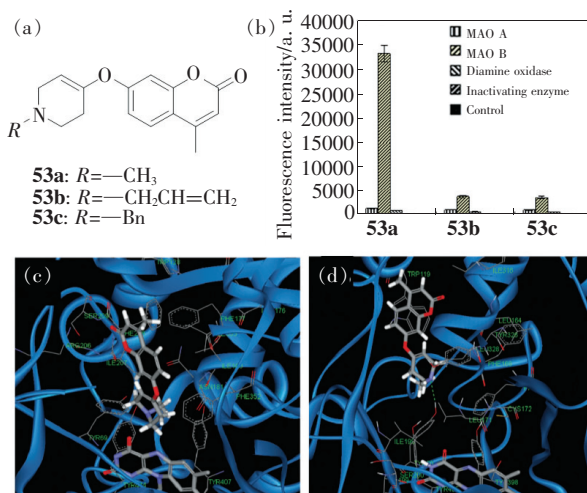


图 20 (a) 探针 **53a** ~ **53c** 的结构; (b) 探针 **53a** ~ **53c** 对 MAO-B 的选择性响应; 探针 **53a** 与人 MAO-A (c) 和 MAO-B (d) 活性位点的结合方式。

Fig. 20 (a) Structures of the probe **53a** – **53c**. (b) Selective response of probes **53a** – **53c** to MAO-B. Combination mode of probe **53a** and active site of human MAO-A (c) and MAO-B (d).

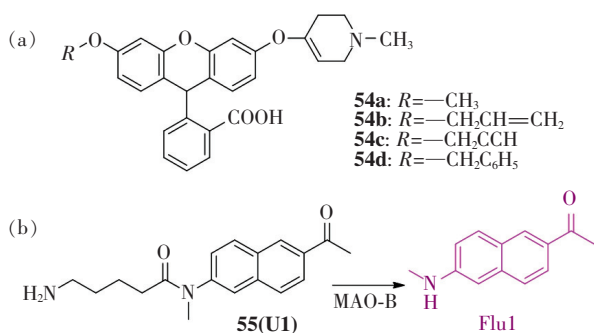


图 21 (a) 探针 **54a** ~ **54d** 的结构; (b) 探针 **55** 对 MAO-B 的响应机制。

Fig. 21 (a) Structures of the probe **54a** - **54d**. (b) Response mechanism of probe **55** to MAO-B.

探针 **54a** ~ **54d**, 如图 21 (a) 所示, 并将其用于活细胞中 MAO-B 的实时荧光成像。

新加坡国立大学姚少钦课题组<sup>[70]</sup>报道了第一个可用于特异性检测 MAO-B 的双光子荧光探针 **55**, 如图 21 (b) 所示。探针 **55** 是基于 MAO-A 和 MAO-B 的活性部位的差异及分子对接结果筛选获得的。MAO-A 的活性部位包含一个单独的体积为  $0.55 \text{ nm}^3$  的疏水空腔, 而 MAO-B 的活性部位更长更狭窄, 包含一个入口空腔和一个疏水的底物空腔, 体积分别为  $0.290 \text{ nm}^3$  和  $0.490 \text{ nm}^3$ 。分子对接研究表明, 探针 **55** 可紧密贴合 MAO-B 的底物空腔, 其一级胺部分面向 MAO-B 中的辅酶 FAD, 因此探针 **55** 可对生物样本中内源性 MAO-B 表现出高灵敏度、高特异性, 对 MAO-B 具有实时成像能力, 并且还可用于检测帕金森病人样本中的 MAO-B。实验结果表明, 帕金森病人淋巴细胞中 MAO-B 的表达明显升高。探针 **55** 的开发对帕金森综合症的研究具有重要意义。该研究结果为小分子成像技术在生物水平上探索 MAO-B 的化学和生物学结构及功能提供了新的起点, 也为基础研究、诊断和药物发现提供了有效的工具。

2018 年, 曲阜师范大学的陈令新课题组<sup>[71]</sup>开发了近红外 MAO-B 荧光探针 **56**, 如图 22 所示。他们认为该探针对 MAO-B 的高特异性可能来自于探针分子的化学结构对酶的空间位阻效应。**56** 可通过比率型近红外荧光的变化特异性检测双氧水诱导的小鼠老龄化模型中的 MAO-B, 结果表明, 小鼠模型中 MAO-B 的水平随小鼠老龄化程度的增加而显著升高。2019 年, 四川大学余

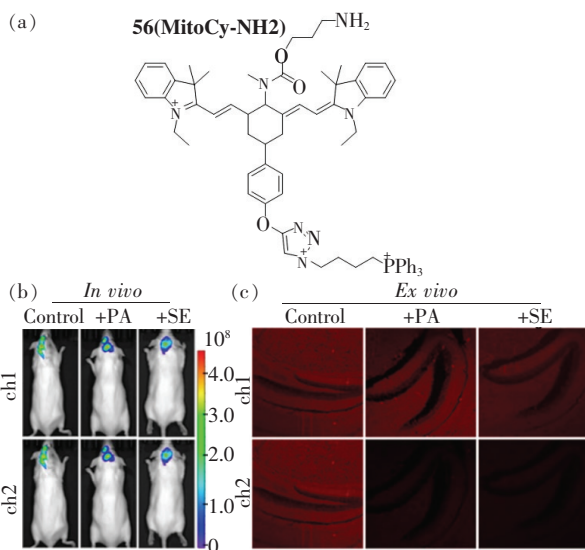


图 22 (a) 探针 **56** 的化学结构; (b) 用探针 **56** 评价抑制剂小鼠经 PA 和 SE 处理后的 MAO-B 水平; (c) 从图 (b) 中分离得到的新鲜小鼠黑质致密部脑组织切片荧光成像图。

Fig. 22 (a) Structure of the probe **56**. (b) Evaluation of the therapeutic effect of PA and SE *in vivo* using **56**. (c) Fluorescence imaging for slices of fresh mice SNpc (substantia nigra pars compacta) isolated from panel (b).

孝其及李坤课题组<sup>[72]</sup>利用 MAO-B 催化的级联反应设计合成了对 MAO-B 特异性响应的荧光探针 **57** 和 **58**, 如图 23 所示。这两个探针对 MAO-B 的检测限分别为  $0.6 \text{ ng/mL}$  和  $0.2 \text{ ng/mL}$ , 并能够用于人星形胶质瘤细胞 U87 中 MAO-B 的荧光成像。

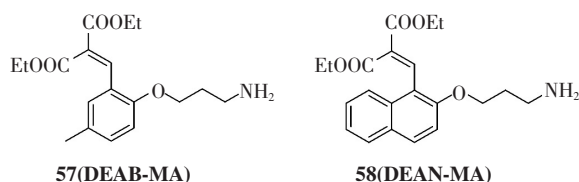


图 23 探针 **57** 和 **58** 的结构

Fig. 23 Structures of the probe **57** and **58**

### 3 结论与展望

本文综述了近年来发展起来的检测 MAOs 的结合型和反应型荧光探针。有关 MAOs 荧光探针的研究虽已取得了长足进步, 但仍有许多问题有待于科学家们解决。(1) 能够准确区分的 MAO-A 或 MAO-B 的荧光探针仍少之又少; (2) 具有近红外发射波长对 MAO-A 或 MAO-B 高灵敏度、高选



择性的荧光探针的开发仍极具挑战性;(3)考虑到 AIE 探针聚集后仍保持高发光强度、良好的光稳定性及较大的 Stokes 位移等独特的光物理性质,开发具有 AIE 特性的 MAOs 荧光探针具有广阔的发展空间;(4)具有高灵敏度的 MAOs 诊疗一体化荧光探针的开发仍然十分有限;(5) MAOs 荧光探针在临床应用中的开发尚处于发展初期。尽管如此,随着理论化学的不断发展、更加准确的

计算方法的提出,我们坚信,在国内外理论与实验科学家的共同努力下,有关 MAOs 荧光探针的开发有望更好地阐明 MAOs 在健康和疾病中的复杂作用,最终走向临床应用,从而造福人类。

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.20210086>

## 参 考 文 献:

- [ 1 ] BERRY M D, JUORIO A V, PATERSON I A. The functional role of monoamine oxidases A and B in the mammalian central nervous system [J]. *Prog. Neurobiol.*, 1994, 42(3):375-391.
- [ 2 ] YOUDIM M B H, EDMONDSON D, TIPTON K F. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors [J]. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2006, 7(4):295-309.
- [ 3 ] EDMONDSON D E, MATTEVI A, BINDA C, *et al.* Structure and mechanism of monoamine oxidase [J]. *Curr. Med. Chem.*, 2004, 11(15):1983-1993.
- [ 4 ] LAN N C, HEINZMANN C, GAL A, *et al.* Human monoamine oxidase A and B genes map to xp11.23 and are deleted in a patient with Norrie disease [J]. *Genomics*, 1989, 4(4):552-559.
- [ 5 ] MA J C, KUBOTA F, YOSHIMURA M, *et al.* Crystallization and preliminary crystallographic analysis of rat monoamine oxidase A complexed with clorgyline [J]. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 2004, 60(Pt 2):317-319.
- [ 6 ] BORTOLATO M, GODAR S C, TAMBARO S, *et al.* Early postnatal inhibition of serotonin synthesis results in long-term reductions of perseverative behaviors, but not aggression, in MAO A-deficient mice [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 75:223-232.
- [ 7 ] WANG C C, BILLETT E, BORCHERT A, *et al.* Monoamine oxidases in development [J]. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2013, 70(4):599-630.
- [ 8 ] MATTSON M P. Apoptosis in neurodegenerative disorders [J]. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2000, 1(2):120-130.
- [ 9 ] EDMONDSON D E, BINDA C, WANG J, *et al.* Molecular and mechanistic properties of the membrane-bound mitochondrial monoamine oxidases [J]. *Biochemistry*, 2009, 48(20):4420-4430.
- [ 10 ] CHIMENTI F, FIORAVANTI R, BOLASCO A, *et al.* Chalcones: a valid scaffold for monoamine oxidases inhibitors [J]. *J. Med. Chem.*, 2009, 52(9):2818-2824.
- [ 11 ] BIALECKA M, KLODOWSKA-DUDA G, HONCZARENKO K, *et al.* Polymorphisms of catechol-O-methyltransferase (COMT), monoamine oxidase B (MAOB), N-acetyltransferase 2 (NAT2) and cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene in patients with early onset of Parkinson' disease [J]. *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2007, 13(4):224-229.
- [ 12 ] LIAO D L, HONG C L, SHIH H L, *et al.* Possible association between serotonin transporter promoter region polymorphism and extremely violent crime in Chinese males [J]. *Neuropsychobiology*, 2004, 50(4):284-287.
- [ 13 ] CARRADORI S, SILVESTRI R. New frontiers in selective human MAO-B inhibitors [J]. *J. Med. Chem.*, 2015, 58(17):6717-6732.
- [ 14 ] BRUNNER H G, NELEN M, BREAKFIELD X O, *et al.* Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A [J]. *Science*, 1993, 262(5133):578-580.
- [ 15 ] 刘亚文, 马昊, 韩晓霞, 等. SERS 光谱检测单胺类氧化酶活性 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40(S1):117-118.  
LIU Y W, MA H, HAN X X, *et al.* SERS-based study on enzyme activity of monoamine oxidase [J]. *Spectrosc. Spec. Anal.*, 2020, 40(S1):117-118. (in Chinese)
- [ 16 ] HERRAIZ T, FLORES A, FERNÁNDEZ L. Analysis of monoamine oxidase (MAO) enzymatic activity by high-performance liquid chromatography-diode array detection combined with an assay of oxidation with a peroxidase and its application to MAO inhibitors from foods and plants [J]. *J. Chromatogr. B*, 2018, 1073:136-144.



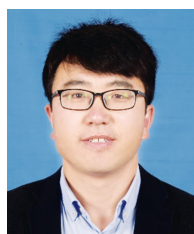
- [17] QIAN L H, LI L, YAO S Q. Two-photon small molecule enzymatic probes [J]. *Acc. Chem. Res.*, 2016, 49(4):626-634.
- [18] YAMAGUCHI K, UEKI R, NONAKA H, *et al.* Design of chemical shift-switching  $^{19}\text{F}$  magnetic resonance imaging probe for specific detection of human monoamine oxidase A [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133(36):14208-14211.
- [19] ZHANG J, CAMPBELL R E, TING A Y, *et al.* Creating new fluorescent probes for cell biology [J]. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002, 3(12):906-918.
- [20] MENG Z Y, YANG L, YAO C X, *et al.* Development of a naphthlimide-based fluorescent probe for imaging monoamine oxidase A in living cells and zebrafish [J]. *Dyes Pigments*, 2020, 176:108208.
- [21] KOCAOGLU O, CARLSON E E. Progress and prospects for small-molecule probes of bacterial imaging [J]. *Nat. Chem. Biol.*, 2016, 12(7):472-478.
- [22] ZHOU W H, VALLEY M P, SHULTZ J, *et al.* New bioluminogenic substrates for monoamine oxidase assays [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128(10):3122-3123.
- [23] KOMATSU T, URANO Y. Evaluation of enzymatic activities in living systems with small-molecular fluorescent substrate probes [J]. *Anal. Sci.*, 2015, 31(4):257-265.
- [24] LAVIS L D, CHAO T Y, RAINES R T, *et al.* Fluorogenic label for biomolecular imaging [J]. *ACS Chem. Biol.*, 2006, 1(4):252-260.
- [25] SHEN W, LONG S B, YU S, *et al.* Design, synthesis, and evaluation of an activity-based probe for cellular imaging of monoamine oxidases [J]. *Med. Chem. Res.*, 2012, 21(11):3858-3862.
- [26] KRYSIAK J M, KREUZER J, MACHEROUX P, *et al.* Activity-based probes for studying the activity of flavin-dependent oxidases and for the protein target profiling of monoamine oxidase inhibitors [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, 51(28):7035-7040.
- [27] LI L, ZHANG C W, GE J Y, *et al.* A small-molecule probe for selective profiling and imaging of monoamine oxidase B activities in models of Parkinson' disease [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, 54(37):10821-10825.
- [28] FLAMAND V, ZHAO H J, PEEHL D M. Targeting monoamine oxidase A in advanced prostate cancer [J]. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2010, 136(11):1761-1771.
- [29] BORTOLATO M, CHEN K, SHIH J C. Monoamine oxidase inactivation; from pathophysiology to therapeutics [J]. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008, 60(13-14):1527-1533.
- [30] JOSSON S, NOMURA T, LIN J T, *et al.*  $\beta$ 2-microglobulin induces epithelial to mesenchymal transition and confers cancer lethality and bone metastasis in human cancer cells [J]. *Cancer Res.*, 2011, 71(7):2600-2610.
- [31] SHARMA A, ARABULA J F, KOO S, *et al.* Hypoxia-targeted drug delivery [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, 48(3):771-813.
- [32] WU J B, LIN T P, GALLAGHER J D, *et al.* Monoamine oxidase A inhibitor-near-infrared dye conjugate reduces prostate tumor growth [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137(6):2366-2374.
- [33] WANG J G, LI C B, CHEN Q Q, *et al.* An easily available ratiometric reaction-based AIE probe for carbon monoxide light-up imaging [J]. *Anal. Chem.*, 2019, 91(15):9388-9392.
- [34] GU X G, ZHAO E G, ZHAO T, *et al.* A mitochondrion-specific photoactivatable fluorescence turn-on AIE-based bioprobe for localization super-resolution microscope [J]. *Adv. Mater.*, 2016, 28(25):5064-5071.
- [35] WANG J G, GU X G, ZHANG P F, *et al.* Ionization and anion- $\pi^+$  interaction; a new strategy for structural design of aggregation-induced emission luminogens [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139(46):16974-16979.
- [36] LI Q Y, LI Y, MIN T L, *et al.* Time-dependent photodynamic therapy for multiple targets; a highly efficient AIE-active photosensitizer for selective bacterial elimination and cancer cell ablation [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59(24):9470-9477.
- [37] CHEN M, CHEN R, SHI Y, *et al.* Malonitrile-functionalized tetraphenylpyrazine; aggregation-induced emission, ratiometric detection of hydrogen sulfide, and mechanochromism [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, 28(6):1704689.
- [38] CHEN M, LIU J K, LIU F, *et al.* Tailoring the molecular properties with isomerism effect of AIEgens [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2019, 29(37):1903834.
- [39] HU F, MAO D, KENRY, *et al.* A light-up probe with aggregation-induced emission for real-time bio-orthogonal tumor labeling and image-guided photodynamic therapy [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, 57(32):10182-10186.

- [40] ZHAO Z, ZHANG H K, LAM J W Y, *et al.* Aggregation-induced emission; new vistas at the aggregate level [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59(25):9888-9907.
- [41] FENG H T, YUAN Y X, XIONG J B, *et al.* Macrocycles and cages based on tetraphenylethylene with aggregation-induced emission effect [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2018, 47(19):7452-7476.
- [42] QI J, LI J, LIU R H, *et al.* Boosting fluorescence-photoacoustic-Raman properties in one fluorophore for precise cancer surgery [J]. *Chem*, 2019, 5(10):2657-2677.
- [43] NIU G L, ZHENG X L, ZHAO Z, *et al.* Functionalized acrylonitriles with aggregation-induced emission; structure tuning by simple reaction-condition variation, efficient red emission, and two-photon bioimaging [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141(38):15111-15120.
- [44] FENG H T, ZOU S M, CHEN M, *et al.* Tuning push-pull electronic effects of AIEgens to boost the theranostic efficacy for colon cancer [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, 142(26):11442-11450.
- [45] LI J, WANG J X, LI H X, *et al.* Supramolecular materials based on AIE luminogens (AIEgens): construction and applications [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2020, 49(4):1144-1172.
- [46] XIE S, WONG A Y H, KWOK R T K, *et al.* Fluorogenic Ag<sup>+</sup>-tetrazolate aggregation enables efficient fluorescent biological silver staining [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2018, 57(20):5750-5753.
- [47] ZHOU Z B, XIE S, CHEN X, *et al.* Spiro-functionalized diphenylethenes; suppression of a reversible photocyclization contributes to the aggregation-induced emission effect [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141(25):9803-9807.
- [48] SHEN W, YU J J, GE J Y, *et al.* Light-up probes based on fluorogens with aggregation-induced emission characteristics for monoamine oxidase—an activity study in solution and in living cells [J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, 8(1):927-935.
- [49] KIM W Y, WON M, SALIMI A, *et al.* Monoamine oxidase-A targeting probe for prostate cancer imaging and inhibition of metastasis [J]. *Chem. Commun.*, 2019, 55(88):13267-13270.
- [50] ZHOU J J P, ZHONG B Y, SILVERMAN R B, *et al.* Direct continuous fluorometric assay for monoamine oxidase B [J]. *Anal. Biochem.*, 1996, 234(1):9-12.
- [51] ZHOU M J, PANCHUK-VOLOSHINA N. A one-step fluorometric method for the continuous measurement of monoamine oxidase activity [J]. *Anal. Biochem.*, 1997, 253(2):169-174.
- [52] ALBERS A E, RAWLS K A, CHANG C J, *et al.* Activity-based fluorescent reporters for monoamine oxidases in living cells [J]. *Chem. Commun.*, 2007(44):4647-4649.
- [53] AW J, SHAO Q, YANG Y M, *et al.* Synthesis and characterization of 2-(2'-hydroxy-5'-chlorophenyl)-6-chloro-4(3H)-quinazolinone-based fluorogenic probes for cellular imaging of monoamine oxidases [J]. *Chem. Asian J.*, 2010, 5(6):1317-1321.
- [54] PENG L H, ZHANG G X, ZHANG D Q, *et al.* A direct continuous fluorometric turn-on assay for monoamine oxidase B and its inhibitor-screening based on the abnormal fluorescent behavior of silole [J]. *Analyst*, 2010, 135(7):1779-1784.
- [55] LI X F, YU J J, ZHU Q, *et al.* Visualization of monoamine oxidases in living cells using “Turn-ON” fluorescence resonance energy transfer probes [J]. *Analyst*, 2014, 139(23):6092-6095.
- [56] LI X F, ZHANG H T, XIE Y S, *et al.* Fluorescent probes for detecting monoamine oxidase activity and cell imaging [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2014, 12(13):2033-2036.
- [57] LI L L, LI K, LIU Y H, *et al.* Red emission fluorescent probes for visualization of monoamine oxidase in living cells [J]. *Sci. Rep.*, 2016, 6:31217.
- [58] KIM D, BAIK S H, KANG S, *et al.* Close correlation of monoamine oxidase activity with progress of Alzheimer's disease in mice, observed by *in vivo* two-photon imaging [J]. *ACS Cent. Sci.*, 2016, 2(12):967-975.
- [59] LIU Y C, TENG L L, XU C Y, *et al.* A “Double-Locked” and enzyme-activated molecular probe for accurate bioimaging and hepatopathy differentiation [J]. *Chem. Sci.*, 2019, 10(47):10931-10936.
- [60] ZHANG S L, ZHAO B, YU L, *et al.* Piperazine multi-substituted triarylphosphine oxide compound as an instant “light-up” fluorescent probe for monoamine oxidase [J]. *Talanta*, 2020, 209:120559.
- [61] DONG J, ZHANG C H, ZHAO B, *et al.* A triarylboron based two-photon fluorescent probe for the detection of intracellular Monoamine oxidase by a reaction-induced aggregation [J]. *Dyes Pigments*, 2020, 174:108077.

- [62] WU X F, LI L H, SHI W, *et al.* Sensitive and selective ratiometric fluorescence probes for detection of intracellular endogenous monoamine oxidase A [J]. *Anal. Chem.*, 2016, 88(2):1440-1446.
- [63] WU X F, SHI W, LI X H, *et al.* A strategy for specific fluorescence imaging of monoamine oxidase A in living cells [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2017, 56(48):15319-15323.
- [64] SHANG J Z, SHI W, LI X H, *et al.* Water-soluble near-infrared fluorescent probes for specific detection of monoamine oxidase A in living biosystems [J]. *Anal. Chem.*, 2021, 93(9):4285-4290.
- [65] YANG Z M, LI W X, CHEN H, *et al.* Inhibitor structure-guided design and synthesis of near-infrared fluorescent probes for monoamine oxidase A (MAO-A) and its application in living cells and in vivo [J]. *Chem. Commun.*, 2019, 55(17):2477-2480.
- [66] YANG Z M, MO Q Y, HE J M, *et al.* Mitochondrial-targeted and near-infrared fluorescence probe for bioimaging and evaluating monoamine oxidase A activity in hepatic fibrosis [J]. *ACS Sens.*, 2020, 5(4):943-951.
- [67] FANG H X, ZHANG H, LI L, *et al.* Rational design of a two-photon fluorogenic probe for visualizing monoamine oxidase A activity in human glioma tissues [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59(19):7536-7541.
- [68] LONG S B, CHEN L, XIANG Y M, *et al.* An activity-based fluorogenic probe for sensitive and selective monoamine oxidase-B detection [J]. *Chem. Commun.*, 2012, 48(57):7164-7166.
- [69] XIANG Y M, HE B Y, LI X F, *et al.* The design and synthesis of novel "turn-on" fluorescent probes to visualize monoamine oxidase-B in living cells [J]. *RSC Adv.*, 2013, 3(15):4876-4879.
- [70] LI L, ZHANG C W, CHEN G Y J, *et al.* A sensitive two-photon probe to selectively detect monoamine oxidase b activity in Parkinson' disease models [J]. *Nat. Commun.*, 2014, 5:3276.
- [71] WANG R, HAN X Y, YOU J M, *et al.* Ratiometric near-infrared fluorescent probe for synergistic detection of monoamine oxidase B and its contribution to oxidative stress in cell and mice aging models [J]. *Anal. Chem.*, 2018, 90(6):4054-4061.
- [72] QIN H H, LI L L, LI K, *et al.* Novel strategy of constructing fluorescent probe for MAO-B *via* cascade reaction and its application in imaging MAO-B in human astrocyte [J]. *Chin. Chem. Lett.*, 2019, 30(1):71-74.



王晓鹏(1995 -),男,河北邢台人,硕士研究生,2018年于赣南师范大学获得学士学位,主要从事有机发光材料的合成及性能的研究。  
E-mail: 592046530@qq.com



王建国(1982 -),男,内蒙古兴和人,博士,研究员,博士研究生导师,2014年于中国科学院化学研究所获得博士学位,主要从事离子- $\pi$ 型有机光电功能材料(包括发光材料机理、有机室温磷光材料的开发与应用及光动力诊疗等)的研究。  
E-mail: wangjg@iccas.ac.cn



李永东(1972 -),男,江西赣州人,博士,教授,硕士研究生导师,2007年于中国科学院福建物质结构研究所获得博士学位,主要从事蛋白质化学及结构生物学的研究。  
E-mail: ydli2005@gmail.com