



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108863961 B

(45) 授权公告日 2021.05.25

(21) 申请号 201810860615.X

C09K 11/06 (2006.01)

(22) 申请日 2018.08.01

G01N 21/64 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108863961 A

(56) 对比文件

(43) 申请公布日 2018.11.23

CN 103694259 A, 2014.04.02

CN 104111244 A, 2014.10.22

(73) 专利权人 河南师范大学

CN 107973785 A, 2018.05.01

CN 102952155 A, 2013.03.06

地址 453007 河南省新乡市牧野区建设东
路46号

CN 102875623 A, 2013.01.16

CN 106928295 A, 2017.07.07

(72) 发明人 毕晶晶 郝玉伟 张贵生 麻娜娜
李琳琳

CN 107674036 A, 2018.02.09

KR 20110081697 A, 2011.07.14

US 8927733 B2, 2015.01.06

(74) 专利代理机构 新乡市平原智汇知识产权代
理事务所(普通合伙) 41139

审查员 旭昀

代理人 路宽

(51) Int. Cl.

C07D 249/04 (2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图8页

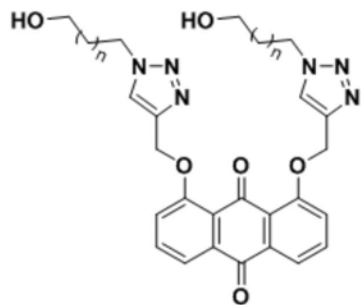
(54) 发明名称

一种三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针及其制备方法和应用

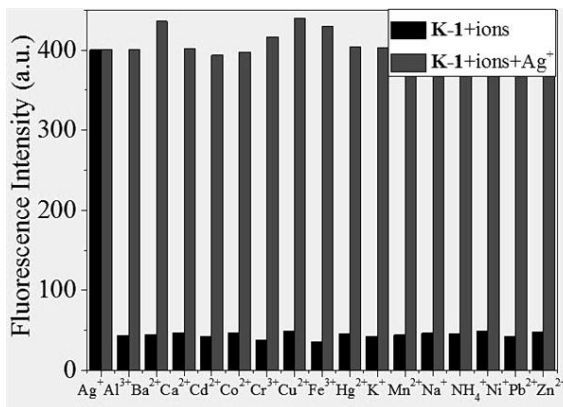
针具有良好的水溶性、生物相容性以及膜穿透性,在人体肝癌细胞HepG2内实现了银离子的成像,这对检测实际生物样品中的银离子具有潜在的应用价值。

(57) 摘要

本发明公开了一种三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针及其制备方法和应用,属于化学分析检测及生物分析检测技术领域。本发明的技术方案要点为:一种三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针,该荧光探针的结构式为:



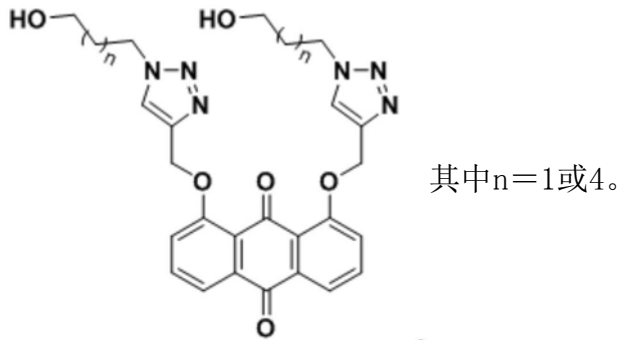
其中n=1或4。本



CN 108863961 B

发明还具体公开了该三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针的制备方法及其在选择性检测分析水环境体系或生物细胞体系中银离子的应用。本发明制得的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探

1. 一种三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针, 其特征在于该荧光探针的结构式为:



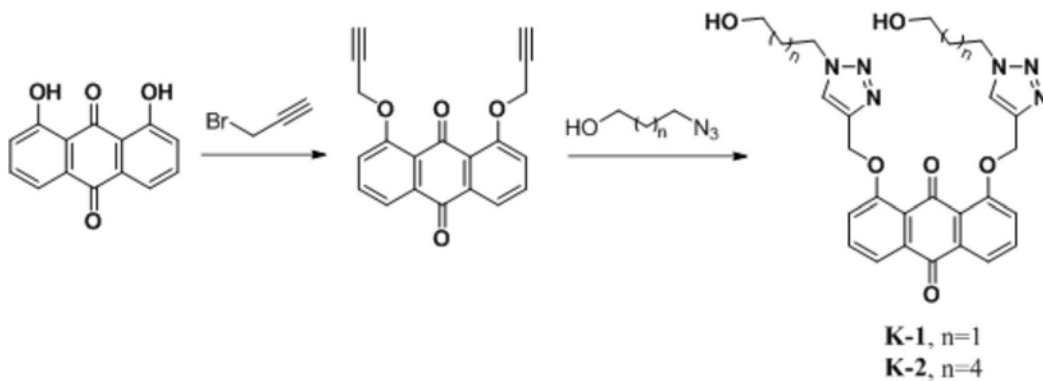
2. 一种权利要求1所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针的制备方法, 其特征在于具体步骤为:

步骤S1: 将1,8-二羟基蒽醌用N,N-二甲基甲酰胺溶解, 再加入碱性化合物和3-溴-1-丙炔后于室温搅拌反应, 其中碱性化合物为碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯或三乙胺, 反应至TLC检测原料反应完全后依次用水洗涤和二氯化碳萃取反应体系, 收集有机相后进行柱层析分离得到1,8-二炔丙基蒽醌;

步骤S2: 将溴丙醇或溴己醇用N,N-二甲基甲酰胺溶解, 再加入叠氮化钠并于80~100℃搅拌反应, 反应至TLC检测原料反应完全后进行柱色谱分离得到叠氮丙醇或叠氮己醇;

步骤S3: 将步骤S2得到的叠氮丙醇或叠氮己醇和步骤S1得到的1,8-二炔丙基蒽醌用H₂O与THF的混合溶剂溶解, 再加入铜盐和L-抗坏血酸钠盐, 在避光条件下于50~60℃搅拌反应, 其中铜盐为氯化铜、硫酸铜或硝酸铜, 反应至TLC检测原料反应完全后依次用水洗涤和二氯甲烷萃取反应体系, 收集有机相后进行柱层析分离得到目标产物三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针K-1或K-2;

合成过程中的反应方程式为:



3. 根据权利要求2所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针的制备方法, 其特征在于: 步骤S1中所述1,8-二羟基蒽醌、碱性化合物与3-溴-1-丙炔的投料摩尔比为8.38:42:33.5。

4. 根据权利要求2所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针的制备方法, 其特征在于: 步骤S2中所述叠氮化钠与溴丙醇或溴己醇的投料摩尔比为3:1。

5. 根据权利要求2所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针的制备方法, 其特征在于: 步骤S3中所述1,8-二炔丙基蒽醌、铜盐、L-抗坏血酸钠盐与叠氮丙醇或叠氮己醇的投料

摩尔比为1.58:0.46:0.91:6.08,所述H₂O与THF的混合溶剂中H₂O与THF的体积比为1:1~1:3。

6. 一种权利要求1所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针在选择性检测分析水环境体系中银离子的应用。

7. 根据权利要求6所述的应用,其特征在于:所述三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针用于待测样品溶液中银离子浓度检测的具体过程为:以二甲基亚砜为溶剂配制摩尔浓度为0.05mmol/L的银离子荧光探针标准液,以HEPES缓冲液为溶剂配制不同浓度的银离子储备液,将30μL银离子荧光探针标准液分别与3mL不同浓度的银离子储备液混合,静置5min后测量混合液在波长为466nm处的荧光发射强度,再以银离子浓度为横坐标,荧光发射强度为纵坐标绘制标准曲线并得到荧光发射强度与银离子浓度标准曲线方程;将30μL银离子荧光探针标准液与3mL待测样品溶液混合,静置5min后测量混合液在波长为466nm处的荧光发射强度,再将该荧光发射强度代入荧光发射强度与银离子浓度标准曲线方程计算得到待测样品溶液中银离子浓度,所述HEPES缓冲液的pH=6~8,荧光光谱测定条件为激发狭缝宽度Ex=10.0nm,发射狭缝宽度Em=20.0nm,激发波长340nm,响应时间1s。

8. 根据权利要求7所述的应用,其特征在于:所述三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针在银离子浓度为0.05~0.5mmol/L的浓度范围内,表现出较明显的光谱响应效应,能够定量检测该浓度范围内银离子含量。

9. 根据权利要求7所述的应用,其特征在于:所述HEPES缓冲液的pH=7.2。

一种三氮唑类葱醌衍生物银离子荧光探针及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于化学分析检测及生物分析检测技术领域,具体涉及一种三氮唑类葱醌衍生物银离子荧光探针及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 研究表明,银离子作为消毒剂能杀灭真菌,同时还可以有效去除水中的伪足原虫、放线菌等。此外银离子还可以通过凝固蛋白质分子和束缚其DNA分子上的供电子体导致病毒死亡。虽然银离子在净水、杀菌、日用品、医学等领域具有重要作用,但其也是一种对生物体和环境都具有危害和毒害作用的重金属之一。环境中的银会通过食物链在人体内蓄积,过量的银积聚会对人的中枢神经系统造成严重损害。银离子还可导致器官衰竭,并通过升高的氧化应激降低线粒体功能。因此开发一种高灵敏度、高选择性的银离子荧光探针是一个重要的研究课题。

[0003] 银离子测定的方法有很多种,包括离子选择电极、离子敏感场效应晶体管、原子吸收光谱法和原子发射光谱法等。但这些检测方法对于仪器设备和操作具有很高的要求。荧光探针法因具有检测灵敏度高、选择性好、响应时间短、廉价易操作等优点而成为银离子检测的重要方法。

[0004] 葱醌类衍生物因其具有光稳定性好、发射波长适中和发光效率高等优越的光物理性成为一类较好的荧光探针母体,并且其荧光和紫外吸收波长均在可见光区,所以具有很高的应用价值。点击化学(Click Chemistry)是一种低成本并能快速合成大量化合物的新型有机合成方法,在点击化学中,对于Cu(I)催化的端基炔和端基叠氮的1,3-偶极环加成反应的应用和研究最为广泛。通过点击化学合成的1,2,3-三唑化合物具有重要的生物活性,基于不同的作用机制,含三氮唑基团的探针与被分析物结合后会产生不同的荧光效应。利用反应前后荧光光物理性质不同,可实现对银离子的检测。此外,通过紫外可见光谱和荧光光谱研究表明,该类探针对银离子具有专一的选择性,在化学和生物检测方面具有重要意义。

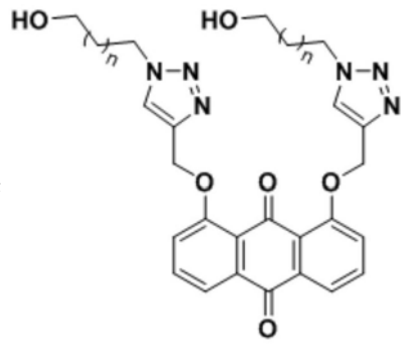
[0005] 本专利申请得到了国家自然科学基金(21702051)、河南师范大学博士启动课题(qd15108)、河南师范大学青年科学基金(2016QK10)、河南省高等学校重点科研项目计划(17A350006,18A150009)及环境化学与生态毒理学国家重点实验室(KF2016-01)的资助与支持。

发明内容

[0006] 本发明解决的技术问题是提供了一种三氮唑类葱醌衍生物银离子荧光探针及其制备方法,该荧光探针利用葱醌作为荧光基团,通过Click反应得到具有高选择性和强结合能力的银离子荧光探针,能够用于高选择性、高灵敏性检测银离子。

[0007] 本发明为解决上述技术问题采用如下技术方案,一种三氮唑类葱醌衍生物银离子

荧光探针,其特征在于该荧光探针的结构式为:



其中n=1或

4。

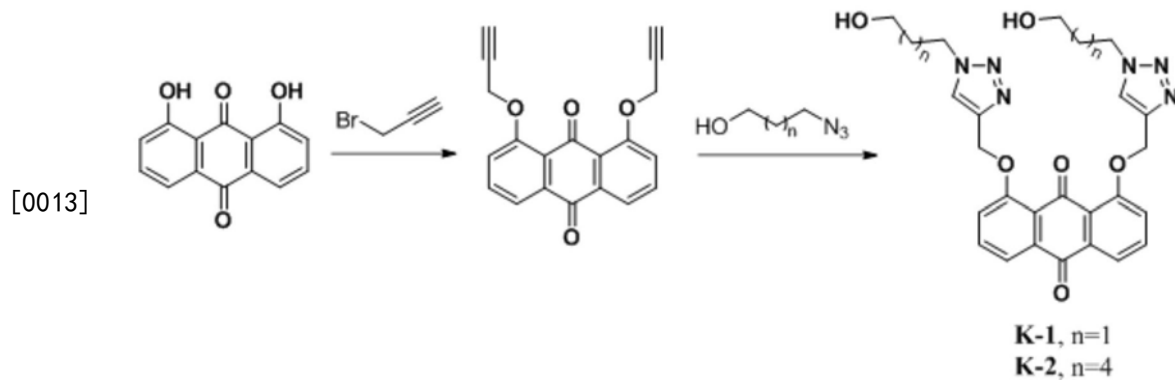
[0008] 本发明所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针的制备方法,其特征在于具体步骤为:

[0009] 步骤S1:将1,8-二羟基蒽醌用N,N-二甲基甲酰胺溶解,再加入碱性化合物和3-溴-1-丙炔后于室温搅拌反应,其中碱性化合物为碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯或三乙胺,反应至TLC检测原料反应完全后依次用水洗涤和二氯化碳萃取反应体系,收集有机相后进行柱层析分离得到1,8-二炔丙基蒽醌;

[0010] 步骤S2:将溴丙醇或溴己醇用N,N-二甲基甲酰胺溶解,再加入叠氮化钠并于80~100℃搅拌反应,反应至TLC检测原料反应完全后进行柱色谱分离得到叠氮丙醇或叠氮己醇;

[0011] 步骤S3:将步骤S2得到的叠氮丙醇或叠氮己醇和步骤S1得到的1,8-二炔丙基蒽醌用H₂O与THF的混合溶剂溶解,再加入铜盐和L-抗坏血酸钠盐,在避光条件下于50~60℃搅拌反应,其中铜盐为氯化铜、硫酸铜或硝酸铜,反应至TLC检测原料反应完全后依次用水洗涤和二氯甲烷萃取反应体系,收集有机相后进行柱层析分离得到目标产物三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针K-1或K-2;

[0012] 合成过程中的反应方程式为:



[0014] 优选的,步骤S1中所述1,8-二羟基蒽醌、碱性化合物与3-溴-1-丙炔的投料摩尔比为8.38:42:33.5。

[0015] 优选的,步骤S2中所述叠氮化钠与溴丙醇或溴己醇的投料摩尔比为3:1。

[0016] 优选的,步骤S3中所述1,8-二炔丙基蒽醌、铜盐、L-抗坏血酸钠盐与叠氮丙醇或叠氮己醇的投料摩尔比为1.58:0.46:0.91:6.08,所述H₂O与THF的混合溶剂中H₂O与THF的体积比为1:1~1:3。

[0017] 本发明所述的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针在选择性检测分析水环境体

系或生物细胞体系中银离子的应用。

[0018] 优选的,所述三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针用于待测样品溶液中银离子浓度的检测,其具体过程为:以二甲基亚砜为溶剂配制摩尔浓度为0.05mmol/L的银离子荧光探针标准液,以HEPES缓冲液为溶剂配制不同浓度的银离子储备液,将30 μ L银离子荧光探针标准液分别与3mL不同浓度的银离子储备液混合,静置5min后测量混合液在波长为466nm处的荧光发射强度,再以银离子浓度为横坐标,荧光发射强度为纵坐标绘制标准曲线并得到荧光发射强度与银离子浓度标准曲线方程;将30 μ L银离子荧光探针标准液与3mL待测样品溶液混合,静置5min后测量混合液在波长为466nm处的荧光发射强度,再将该荧光发射强度代入荧光发射强度与银离子浓度标准曲线方程计算得到待测样品溶液中银离子浓度,所述HEPES缓冲液的pH=6~8,荧光光谱测定条件为激发狭缝宽度Ex=10.0nm,发射狭缝宽度Em=20.0nm,激发波长340nm,响应时间1s。

[0019] 优选的,所述三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针在银离子浓度为0.05~0.5mmol/L的浓度范围内,表现出较明显的光谱响应效应,能够定量检测该浓度范围内银离子含量。

[0020] 优选的,所述HEPES缓冲液的pH=7.2。

[0021] 优选的,所述三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针用于细胞内银离子的检测和细胞成像,其具体过程为:将人体肝癌细胞HepG2用PBS缓冲溶液润洗后用1mmol/L的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针溶液于37 $^{\circ}$ C培养30min,再将人体肝癌细胞HepG2用1mmol/L的AgNO₃的PBS缓冲溶液于37 $^{\circ}$ C培养30min,再次用PBS缓冲液清洗3次,然后用Olympus FV 1000激光共焦显微镜观察共焦荧光成像,能够明显观察到加入银离子后人体肝癌细胞HepG2的荧光成像现象。

[0022] 本发明与现有技术相比具有以下有益效果:

[0023] 1、本发明制得的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针具有良好的水溶性、生物相容性以及膜穿透性,在人体肝癌细胞HepG2内实现了银离子的成像,这对检测实际生物样品中的银离子具有潜在的应用价值;

[0024] 2、本发明制得的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针在银离子浓度为0.05~0.5mmol/L的浓度范围内,表现出较明显的光谱响应效应,能够定量检测该浓度范围内银离子含量;

[0025] 3、本发明制得的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针可高选择性识别银离子,且常见的共存金属离子对其没有干扰;

[0026] 4、本发明制得的三氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针专一性强,灵敏度高,合成步骤简单,检测速度快,具有较好的商业化应用价值。

附图说明

[0027] 图1为荧光探针K-1中加入不同金属离子(1.0mmol/L)的荧光强度变化图;

[0028] 图2为干扰离子存在时荧光探针K-1(0.05mmol/L)对银离子的荧光识别作用图;

[0029] 图3为荧光探针K-1对不同浓度银离子的荧光滴定光谱曲线;

[0030] 图4为 $\lambda=466$ nm处荧光探针K-1对银离子的工作曲线图;

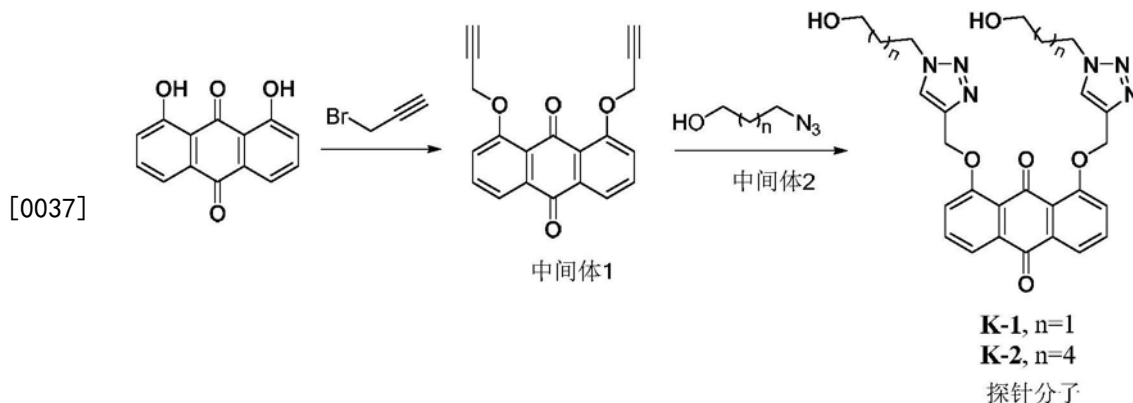
[0031] 图5为Job曲线($\lambda_{em}=466$ nm);

- [0032] 图6为银离子对荧光探针K-1荧光滴定的Benesi-Hildebrand图；
 [0033] 图7为不同pH值对荧光强度的影响图；
 [0034] 图8为荧光探针K-1 (0.05mmol/L) 对HepG2细胞中银离子的荧光成像图。

具体实施方式

[0035] 以下通过实施例对本发明的上述内容做进一步详细说明,但不应该将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实施例,凡基于本发明上述内容实现的技术均属于本发明的范围。

[0036] 实施例1



[0038] 1,8-二炔丙基蒽醌中间件1的合成

[0039] 将碱性化合物碳酸钠(42mmol)和3-溴-1-丙炔(2.6mL,33.5mmol)加入到含有1,8-二羟基蒽醌(2.013g,8.38mmol用100mLDMF溶解)的250mL圆底烧瓶中,于室温搅拌反应,反应液颜色由黄色变成咖啡色,TLC检测原料反应完全后用水洗涤,二氯化碳萃取得有机相后用柱色谱进行分离得到黄色固体1,8-二炔丙基蒽醌中间件1(2.330g,产率为88%)。

[0040] ^1H NMR (600MHz, DMSO) δ 7.77 (dt, $J=20.4, 7.2\text{Hz}$, 1H), 7.60 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 5.02 (s, 1H), 3.66 (s, 1H)。

[0041] 叠氮丙醇或叠氮己醇的合成

[0042] 将叠氮化钠(4.34g,66.9mmol)加入到含有溴丙醇(2mL,22.3mmol用100mLDMF溶解)的50mL圆底烧瓶中,加热至90℃左右搅拌反应过夜,TLC检测原料反应完全后用柱色谱进行分离得到无色油状液体叠氮丙醇,产率为97%,同法以溴己醇为原料得到无色油状液体叠氮己醇,产率为98%。

[0043] 氮唑类蒽醌衍生物银离子荧光探针K-1或K-2的合成

[0044] 将铜盐氯化铜(0.46mmol)和L-抗坏血酸钠盐(181mg,0.91mmol)加入到含有1,8-二炔丙基蒽醌中间件1(500mg,1.58mmol)和叠氮丙醇(0.4mL,6.08mmol)的25mL圆底烧瓶中,用2mL体积比为1:1的 H_2O 与THF的混合溶剂溶解,在避光条件下于55℃搅拌反应过夜,TLC检测原料反应完全后用水洗涤,二氯化碳萃取得有机相后用柱色谱进行分离得到黄色固体化合物K-1(150mg,产率80%),同法以叠氮己醇为原料得到黄色固体化合物K-2(产率82%)。

[0045] 荧光探针K-1: ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.25 (s, 2H), 7.78-7.69 (m, 6H), 5.34 (s, 4H), 4.68 (t, $J=4.4\text{Hz}$, 2H), 4.43 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 4H), 3.40 (dd, $J=10.8, 6.0\text{Hz}$, 4H), 2.00-

1.92 (m, 4H). ^{13}C NMR (150MHz, DMSO) δ 183.2, 181.1, 157.5, 142.3, 134.2, 125.0, 123.9, 120.9, 118.8, 62.6, 57.4, 46.8, 33.0. ESI (+) -HRMS (m/z): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_6\text{Na}$ 541.1806, found 541.1802)。

[0046] 荧光探针K-2: ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ 8.25 (s, 2H), 7.75-7.69 (m, 6H), 5.34 (s, 4H), 4.70 (s, 2H), 4.41-4.33 (m, 4H), 3.35 (t, $J=12.6, 6.4\text{Hz}$, 4H), 1.85-1.75 (m, 4H), 1.43-1.33 (m, 4H), 1.32-1.25 (m, 4H), 1.25-1.15 (m, 4H). ^{13}C NMR (150MHz, DMSO) δ 183.2, 181.1, 157.5, 135.9, 133.1, 128.6, 120.4, 119.1, 117.7, 62.8, 57.4, 46.8, 30.1, 29.2, 26.1, 25.4. ESI (+) -HRMS (m/z): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd. for $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_6\text{Na}$ 625.2745, found 625.2745)。

[0047] 实施例2

[0048] 荧光光谱测定条件

[0049] 激发狭缝宽度10.0nm, 发射狭缝宽度20.0nm, 激发波长340nm, 响应时间1s, 灵敏度为高, 样品池选择1cm光程的双通石英比色皿和四通石英比色皿。

[0050] 以二甲基亚砜为溶剂, 于5mL容量瓶中准确配制摩尔浓度为 $1.0 \times 10^{-2}\text{mol/L}$ 的荧光探针K-1、K-2溶液并定容, 取25 μL 母液于5mL的比色管中定容, 此时荧光探针的摩尔浓度为50 μM ; 再用HEPES缓冲液配制摩尔浓度为 $1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的多种金属盐溶液, 用HEPES缓冲液同样稀释至摩尔浓度为50 μM 。

[0051] 其中荧光探针K-1、K-2的测试条件为 $E_x=10.0\text{nm}$, $E_m=20.0\text{nm}$ 。

[0052] 实施例3

[0053] 荧光探针K-1对不同金属离子的选择性识别

[0054] 用体积比HEPES:DMSO=7:1的缓冲溶液配制摩尔浓度为0.05mmol/L的荧光探针溶液, 然后向荧光探针溶液中分别加入20当量的 Ag^+ 、 Al^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^+ 、 Mn^{2+} 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 Ni^+ 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 等离子和空白荧光探针溶液。结果表明, 含有空白荧光探针溶液和其它金属离子的体系在最大吸收波长466nm处几乎没有荧光发射。在空白荧光探针溶液中加入20当量的银离子后, 体系在466nm处荧光迅速增强, 如图1所示。实验数据表明荧光探针K-1对 Ag^+ 具有较高的选择性识别能力。

[0055] 共存金属阳离子对荧光探针K-1检测 Ag^+ 的影响

[0056] 用体积比HEPES:DMSO=7:1的缓冲溶液配制摩尔浓度为0.05mmol/L的荧光探针溶液, 然后向荧光探针溶液中分别加入20当量的 Ag^+ 、 Al^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^+ 、 Mn^{2+} 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 Ni^+ 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 等离子。静置后测其荧光强度, 在上述有其它金属离子的溶液中再补加20当量的 Ag^+ , 如图2所示, 在466nm的波长处荧光强度并未减弱, 这说明荧光探针K-1对其它金属有较强的抗干扰能力, 并且能高选择性的识别 Ag^+ 。

[0057] 实施例4

[0058] 线性关系及检测限

[0059] 实验研究了特定荧光探针K-1浓度(0.05mmol/L)加入不同浓度的 Ag^+ 荧光强度的变化, 如图3所示, 当体系内 Ag^+ 浓度逐渐增大时, 体系在466nm处荧光明显增强。荧光探针荧光信号与 Ag^+ 浓度在0.05-0.5mmol/L范围内呈线性关系, 线性方程为 $Y=132826.67 \times [\text{Ag}^+] + 74.5$, 相关系数 $R^2=0.997$, 如图4所示, 由公式可计算出荧光探针K-1的检测限为21.2 $\mu\text{mol/L}$ 。

[0060] 实施例5

[0061] 结合比和络合常数

[0062] 利用Job's Plot方法配制一系列荧光探针K-1与Ag⁺总浓度为0.25mmol/L、浓度比不同的荧光探针K-1与Ag⁺的混合液,测定其在λ_{em}=466nm处的荧光强度,如图5所示,当荧光探针K-1与Ag⁺浓度比为1:1时荧光强度达到最大值,可得荧光探针K-1与银离子的结合比为1:1。

[0063] 将银离子逐步滴加到荧光探针K-1中,测定荧光探针K-1在λ=466nm时的荧光强度的变化曲线。依据滴定曲线的数据利用Benesi-Hildebrand方程,以1/[Ag⁺](F_{max}-F_{min})为横坐标,1/(F-F_{min})为纵坐标,线性拟合得到一条线性方程y=7.31×10⁻⁴/K_a+0.003(R²=0.978),如图6所示,根据方程可得结合常数为K_a=1368M⁻¹。公式如下:

$$[0064] \quad \frac{1}{F-F_{min}} = \frac{1}{K_a(F_{max}-F_{min})[Ag^+]} + \frac{1}{F_{max}-F_{min}}$$

[0065] 实施例6

[0066] pH对荧光探针K-1和K-1+Ag⁺荧光光谱的影响

[0067] 测定不同pH值对荧光探针K-1和K-1+Ag⁺在其最大发射波长λ_{em}=466nm处荧光强度的影响。如图5所示,在pH为5.0~11.0的范围内,荧光探针K-1的荧光强度几乎不变。在pH为6.0~8.0范围时,K-1+Ag⁺的荧光强度几乎不变。因此,在pH为6.0~8.0的范围内,荧光探针K-1对Ag⁺的检测不受pH的影响,有利于其在生物体及活细胞内Ag⁺的检测。所以实验中荧光探针的离子选择性、竞争性、浓度滴定等均在pH=7.2的HEPES缓冲溶液中进行。

[0068] 实施例7

[0069] 活细胞内荧光探针K-1检测Ag⁺

[0070] 为了研究荧光探针K-1在活细胞内检测Ag⁺的能力,将人体肝癌细胞HepG2用磷酸盐缓冲溶液(PBS)润洗后用1mM的荧光探针K-1溶液于37℃培养30min,用PBS缓冲溶液清洗3次,再将人体肝癌细胞用1mM的AgNO₃的PBS缓冲溶液于37℃培养30min,再次用PBS缓冲溶液清洗3次,然后用Olympus FV 1000激光共焦显微镜观察共焦荧光成像,如图8所示,能够明显观察到加入Ag⁺后HepG2细胞的荧光呈像现象。

[0071] 以上实施例描述了本发明的基本原理、主要特征及优点,本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明原理的范围下,本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进均落入本发明保护的范围内。

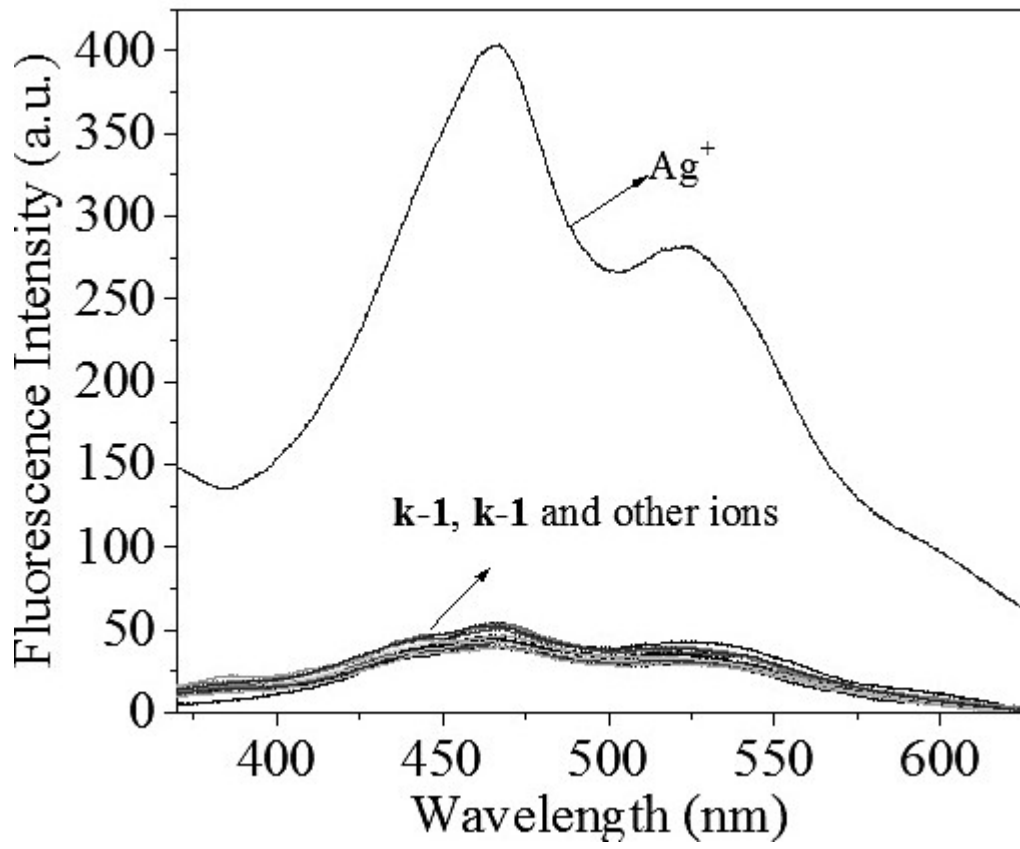


图1

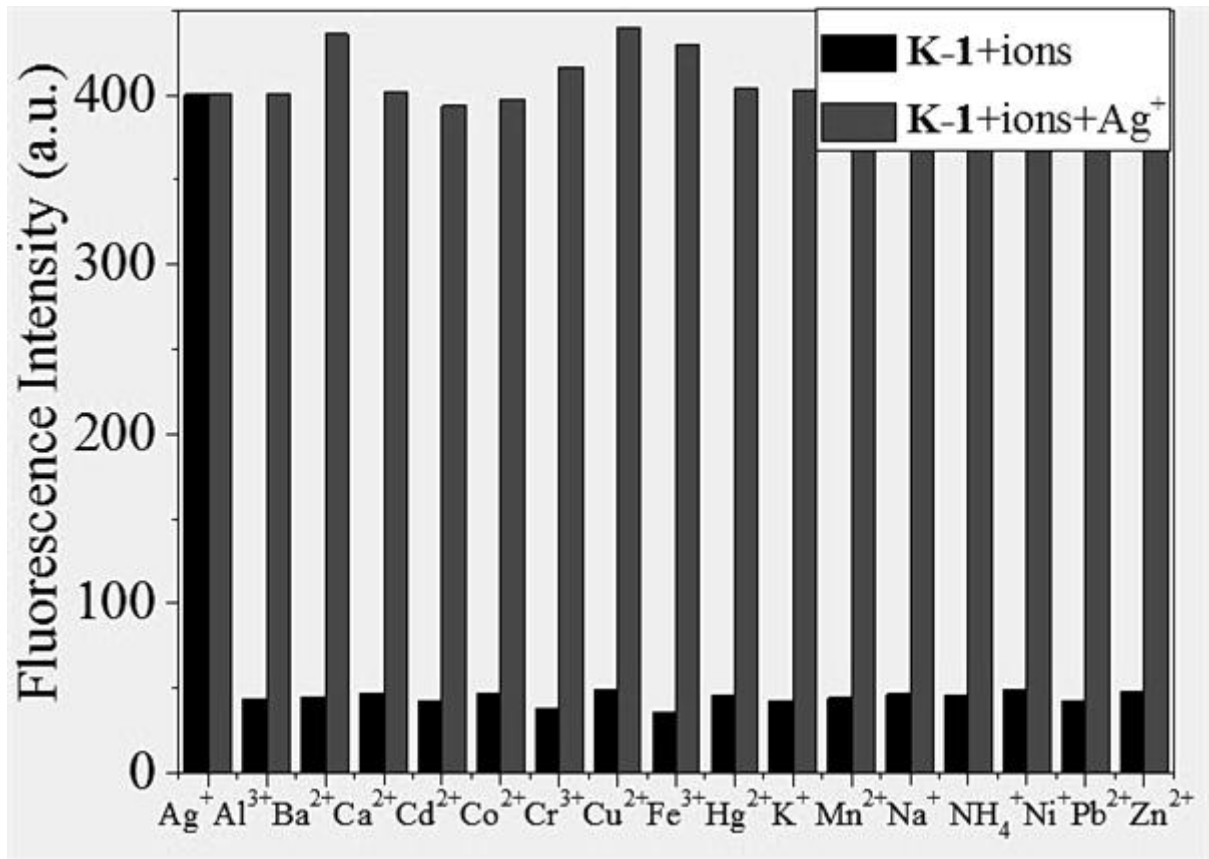


图2

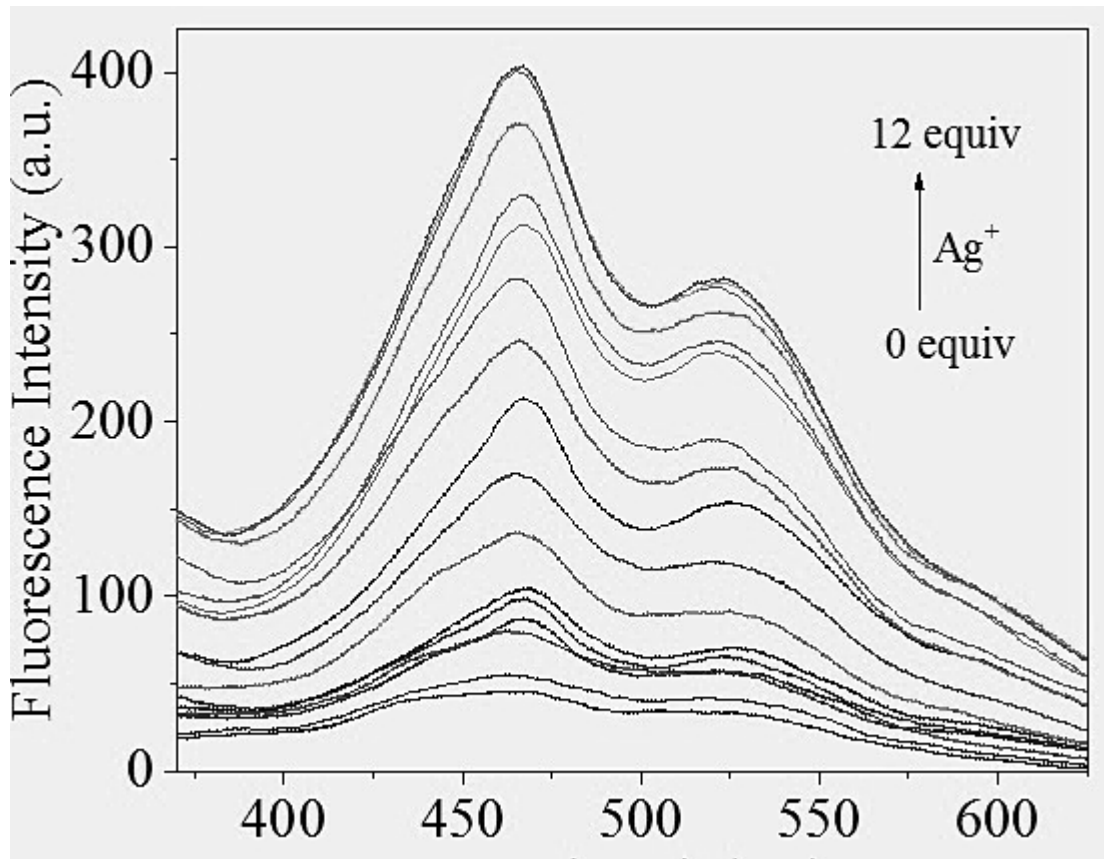


图3

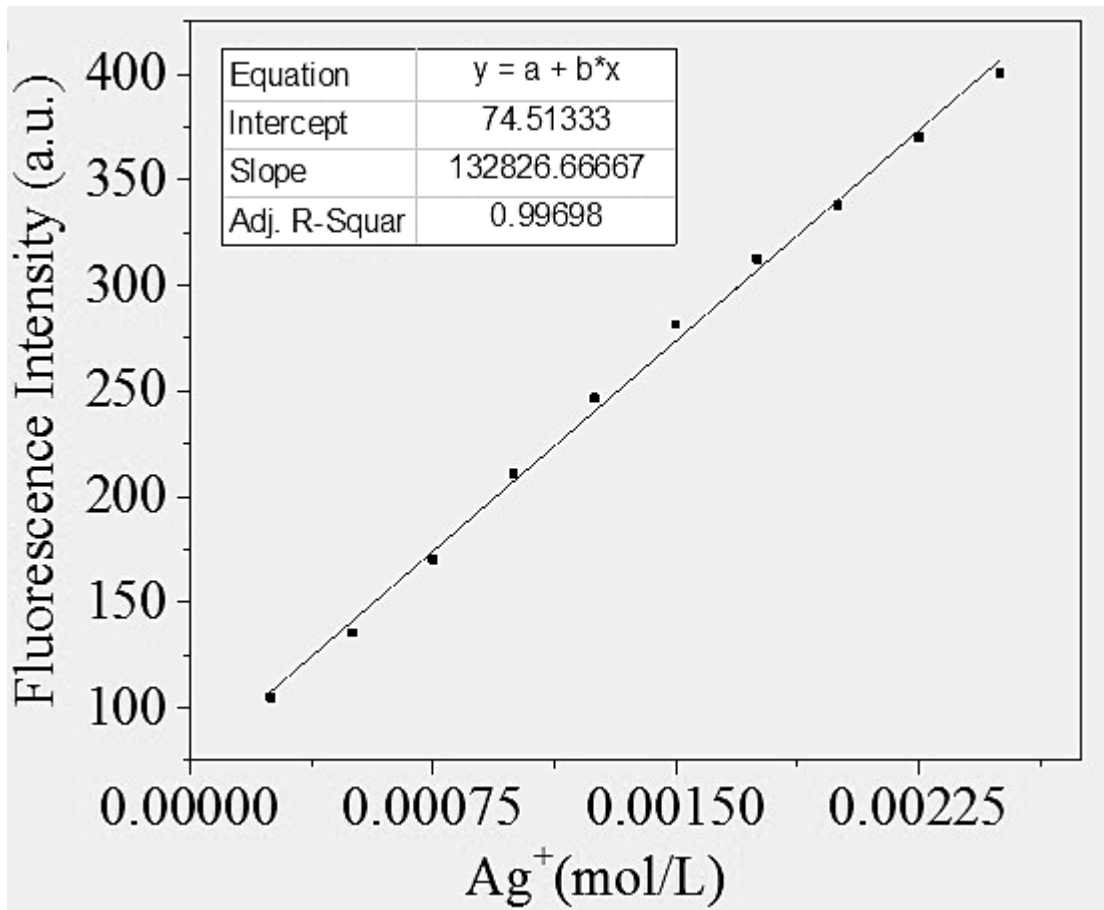


图4

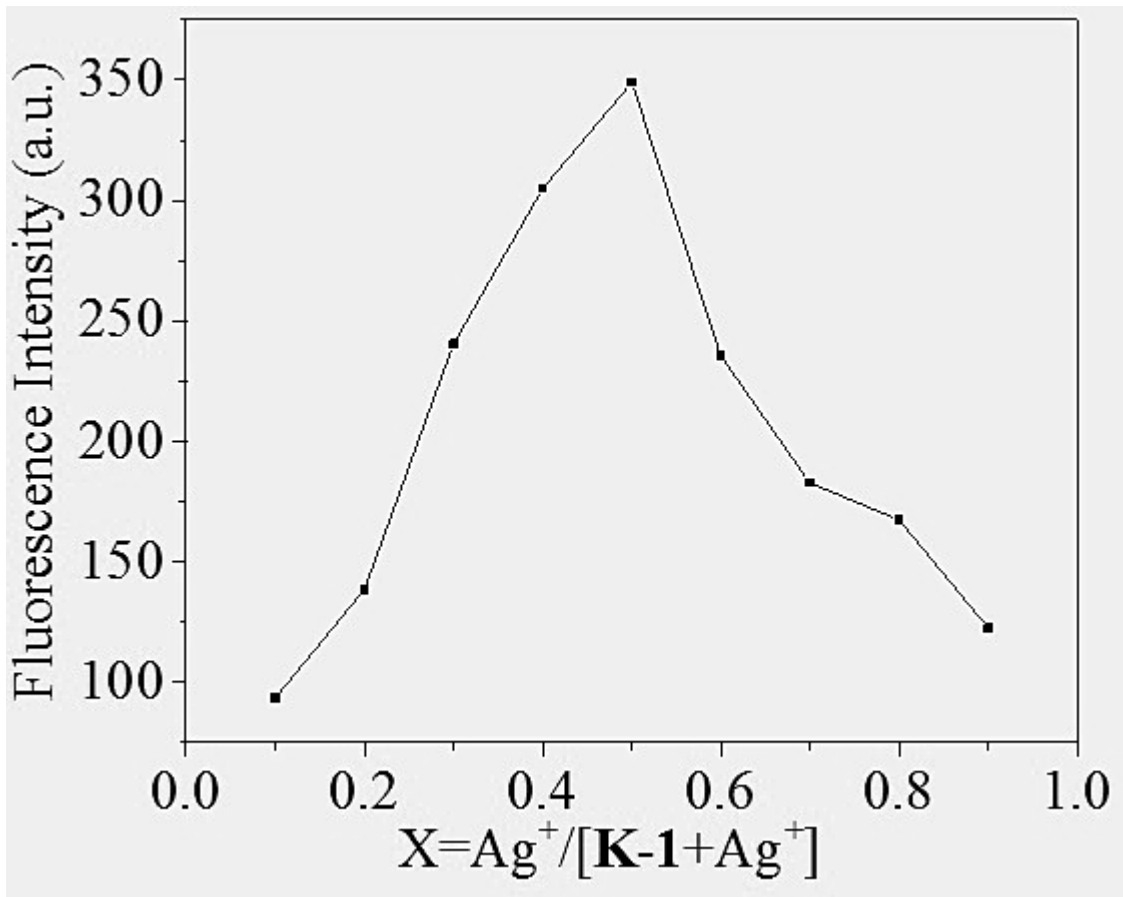


图5

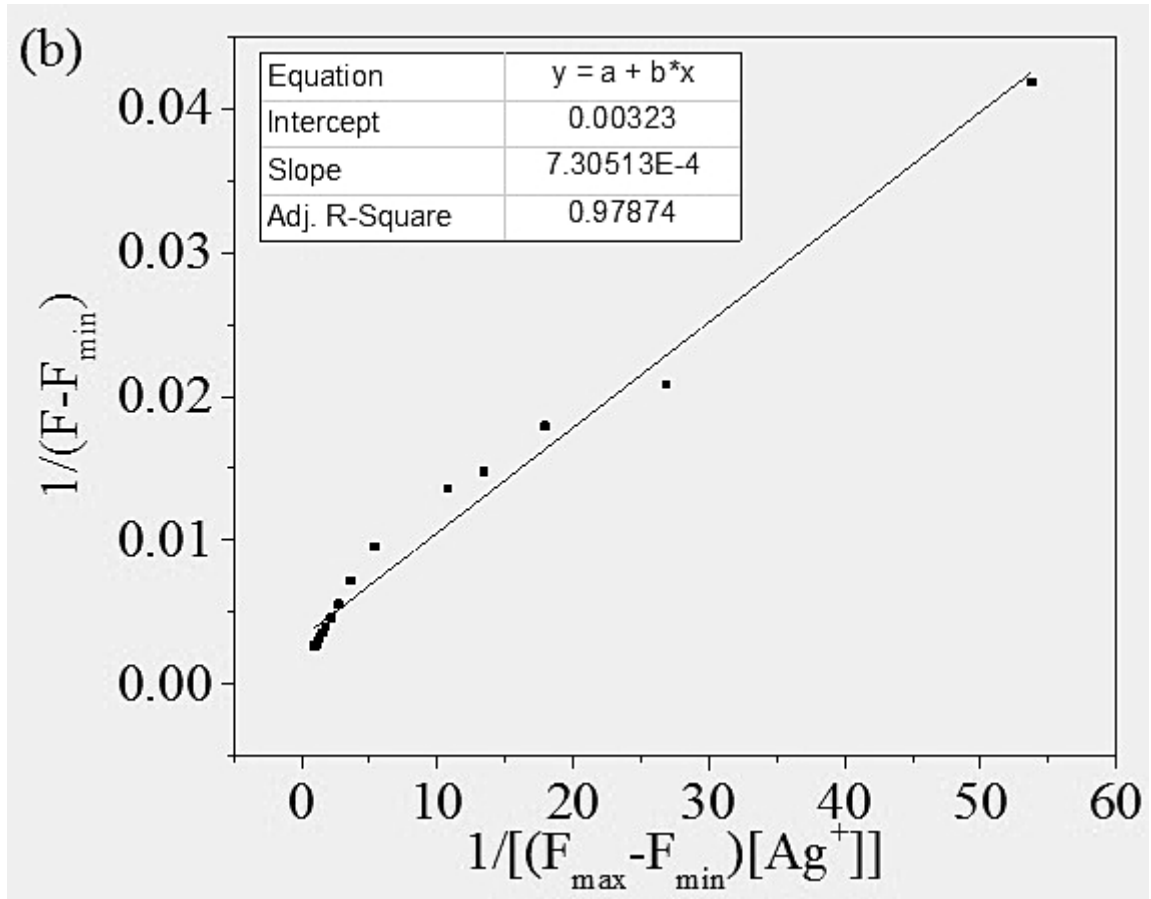


图6

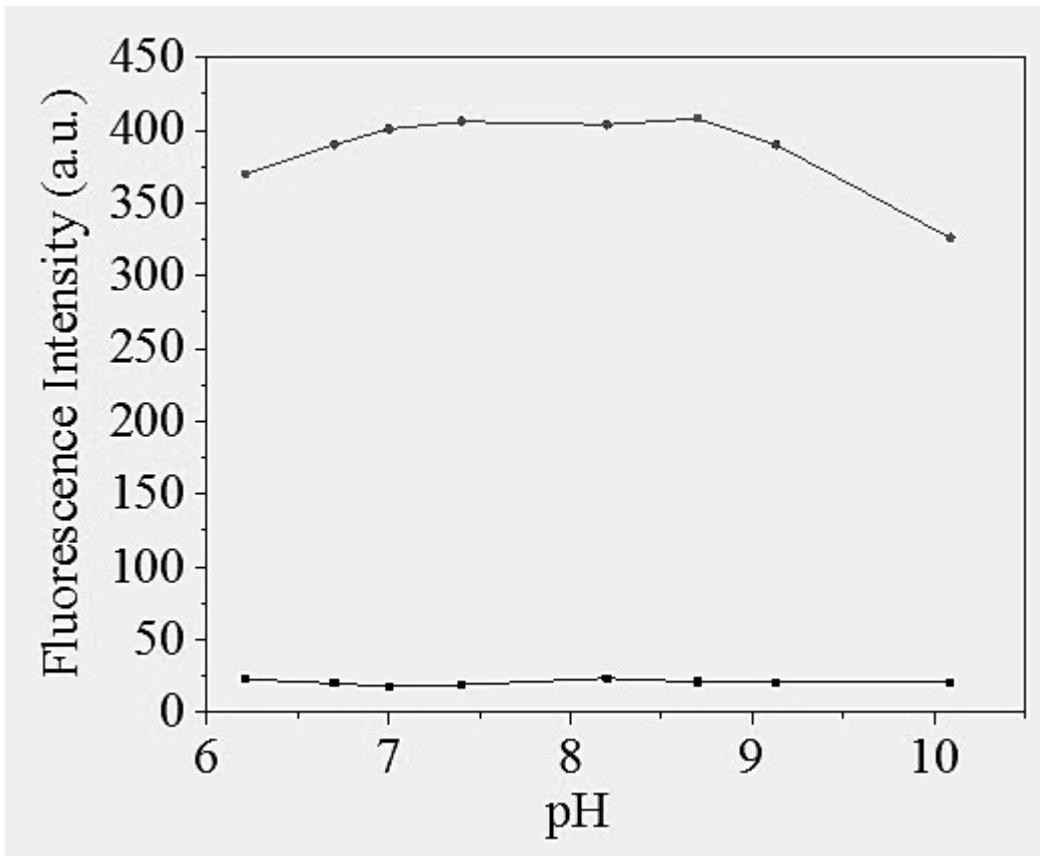


图7

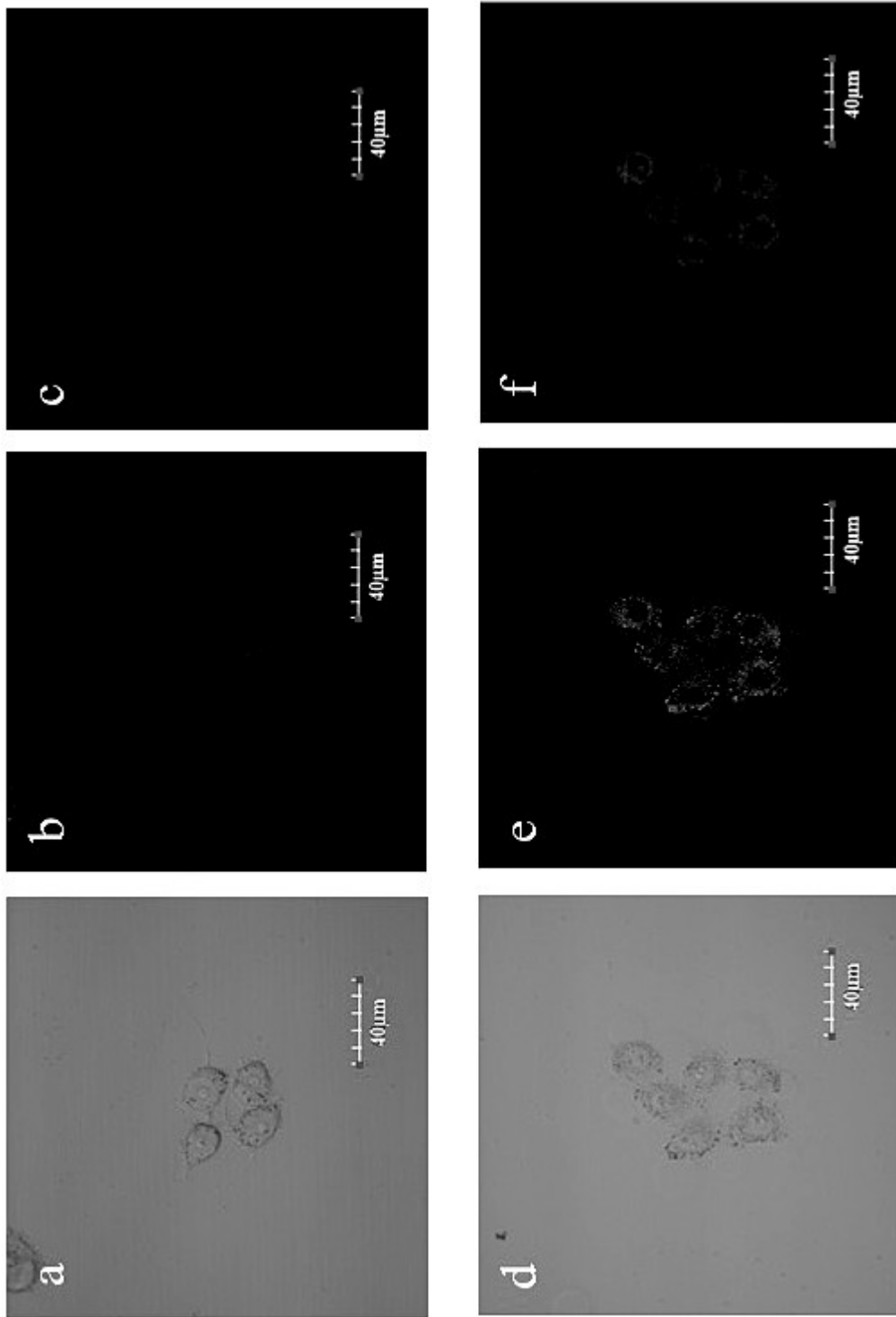


图8