2019年12月

DOI:10.19756/j.issn.0253-3820.191451

新型比色荧光双通道探针用于硫化氢的检测

王肖莉 姚猛1,2 李引 魏超 王美*1,2

1(河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002)

2(河北省阻燃材料与加工技术工程技术研究中心, 保定 071002)

摘 要 以 7-硝基苯并呋咱(NBD)为荧光团,经一步有机合成,高产率制备比色荧光双通道探针,用于检测环境和体内硫化氢(H_2S)的含量。以无水 Na_2S 为 H_2S 供体,考察了探针的选择性、灵敏性等性能。结果表明,探针荧光强度与 H_2S 浓度在 5 ~ 50 μ mol/L 浓度范围内呈良好的线性关系,检出限为 0. 125 μ mol/L,同时反应溶液由无色变为紫色。采用 MTT 法测试探针的细胞毒性,结果表明,在探针浓度低于50 μ mol/L条件下,细胞存活率高于 90%。激光扫描共聚焦显微成像结果表明,探针可靶向细胞溶酶体,可对溶酶体内 H_2S 进行成像研究。

关键词 硫化氢;比色检测;荧光探针;细胞成像

1 引言

硫化氢 (H_2S) 是一种无色且具有臭鸡蛋气味的气体,一般由工业中含硫物质非完全燃烧产生,被认为是一种有毒环境污染物。近年的研究发现, H_2S 是生命体内一种重要的内源性气体信号分子,参与多种重要的生理过程 $^{[1\sim4]}$, H_2S 浓度异常与许多疾病有关,如阿尔茨海默氏症、唐氏综合症、糖尿病和肝硬化等 $^{[5,6]}$ 。但是,其在体内的潜在分子机制尚不明确 $^{[7,8]}$ 。因此,基于 H_2S 在环境和生命体内的重要作用,开发灵敏有效的分析方法具有重要的意义 $^{[9]}$ 。

传统的 H_2S 检测方法包括吸收光谱法、电化学法、气相色谱法和硫沉淀法等 $^{[10^{-13}]}$,而光学探针法发展迅速。其中,比色法可不借助昂贵的仪器设备,直接对目标物裸眼分析;荧光探针法选择性好、灵敏度高,可对生物样本(细胞、组织和活体等)内目标物进行实时荧光成像研究。基于 H_2S 的化学性质(还原性、亲核性等),研究者发展了多种反应型 H_2S 荧光探针 $^{[14^{-16}]}$,包括还原型(芳香叠氮/硝基/羟胺还原为胺基) $^{[17^{-20}]}$ 、亲核型(亲核取代 $^{[21,22]}$ 、亲核加成/双亲核加成 $^{[23,24]}$)、形成 CuS 沉淀型 $^{[25]}$ 等。近年来,虽然已报道了大量 H_2S 荧光探针,但是开发兼具制备简便、选择性好、灵敏度高等优点,并能够实现比色和荧光双通道检测 H_2S 的优良的探针分子,用于检测环境和生物样品中的 H_2S ,仍然是当前的研究热点。

2013 年,本研究组^[26]和 Pluth 研究组^[27]分别发现 7-硝基苯并呋咱(NBD)胺可与 H_2S 发生亲核取代反应,其产物 NBD-SH 可用于比色检测 H_2S 。基于此,利用多种光物理扰动原理,构建了系列选择性检测 H_2S 的比色荧光双通道探针^[28~30]。进一步利用 NBD 优秀的荧光性质,本研究组^[31]和易龙研究组^[32]分别构建了以 7-羟基香豆素连 NBD 为骨架结构的比例计量型 H_2S 荧光探针,实现了细胞线粒体和溶酶体内 H_2S 的比例成像研究。

考虑到上述探针分子需要多步有机合成进行制备,本研究以 NBD 为荧光团,吗啉为溶酶体靶向基团,经一步有机反应,设计合成了新型比色荧光双通道 H_2S 探针 NBD-M。此探针本身具有荧光,与 H_2S 反应后的产物 NBD-SH 在水溶液中荧光较弱,因此,可产生由开到关的荧光变化;同时,利用产物 NBD-SH 的颜色变化可比色检测溶液中 H_2S 。考察了探针的溶酶体靶向的功能,并测试了探针检测细胞溶酶体内 H_2S 的能力。

²⁰¹⁹⁻⁰⁷⁻²⁸ 收稿; 2019-11-04 接受

本文系河北省自然科学基金项目(Nos. B2019201418, B2018201234)、河北省高等学校科学技术研究项目(No. QN2017015)和保定市科学研究与发展计划(No. 18ZF315)资助

^{*} E-mail: wangmarian@163.com

1916 分析化学 第47卷

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Brucker 600 核磁共振仪(美国 Brucker 公司, TMS 为内标); Varian 7.0 T FTICR-MS 质谱仪、UV-3600 型分光光度计(美国 Agilent 公司); F-7000 型荧光光谱仪(日本日立公司); PHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂); ZF-7 型三用紫外分析仪、X-4 显微熔点仪(上海精密仪器仪表有限公司)。4-氯-7-硝基苯并呋咱和吗啉(阿拉丁试剂有限公司); 其它试剂均购于天津光复试剂公司。所用试剂均为市售分析纯、实验用水为二次蒸馏水。

2.2 探针 NBD-M 的合成

将 200 mg(1.00 mmol)NBD-Cl 和 91 mg(1.05 mmol)吗啉溶解于 10 mL 二氯甲烷,向其中加入 209 μ L(1.50 mmol)三乙胺,室温反应 1 h 后,加入 10 mL 水,萃取,有机相加入无水 Na₂SO₄干燥,蒸除溶剂,所得粗品用硅胶柱分离(二氯甲烷-甲醇,100:1,V/V)得淡红色固体,产率 90%。熔点:147.2~148.5℃。 ¹H NMR(DMSO- d_6 ,600 MHz), δ (ppm):8.51(d,J=9.0 Hz,1H),6.68(d,J=9.0 Hz,1H),4.13~4.12(m,4H),3.85~3.83(m,4H)。 ¹³C NMR(DMSO- d_6 ,151 MHz), δ (ppm):145.39,144.75,144.73,136.21,121.36,103.42,65.67,49.47。MS(ESI⁺)calcd for M+H⁺] 341.1,found 341.2。探针 NBD-M 的合成路线见下式。

$$O_2N$$
 O_2N
 O_2N

2.3 光谱测试

配制 2 mmol/L 探针的 DMSO 溶液,在室温下、磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 7.4, 0.02 mol/L)中进行光谱测试,探针浓度为 10 μ mol/L,激发波长为 490 nm,激发和发射狭缝宽度均为 5 nm。选择性测试所需各种潜在干扰物质均溶于纯 PBS,测试浓度为 200 μ mol/L。

2.4 细胞成像

细胞培养实验方法和条件参见电子版文后支持信息。HeLa 细胞接种于 35 mm 细胞成像专用玻底培养皿,成像细胞密度为 2×10^4 。加入 NBD-M(10 μ mol/L)和商品化溶酶体定位探针 Lyso-Tracker Red (20 nmol/L) 共孵育 30 min,用 PBS 洗涤 3 次后,进行共定位成像研究。探针 NBD-M 荧光通道激发波长为 488 nm,发射波长范围 500 ~ 550 nm; Lyso-Tracker Red 荧光通道激发波长为 546 nm,波长采集范围 590 ~ 640 nm。

3 结果与讨论

3.1 探针的光谱性质

探针的荧光性质是探针荧光检测和成像的基础。考察了不同溶剂对探针紫外吸收和荧光发射光谱的影响。随着溶剂极性增加,探针的最大紫外和荧光发射均发生红移(电子版文后支持信息表 S1)。如图 1 所示,在 PBS 中,探针的最大紫外吸收和荧光发射分别为 496 和 576 nm,斯托克斯位移高达 80 nm,在实际应用中可有效避免激发光对检测光谱信号的干扰。

3.2 探针对 H,S 的识别性能研究

在 PBS (0.02 mol/L, pH 7.4) 溶液中, 探针的最大紫外吸收峰强度在探针浓度 0~4.0× 10^{-4} mol/L范围内线性关系良好 (r=0.9993), 表明探针具有良好的水溶性(电子版文后支持信息图 S2)。如图 2 所示,将探针溶液(10 μ mol/L)和新配 H_2 S 溶液(200 μ mol/L)混合,30 min 后反应体系的荧光信号基本稳定。计算所得探针与 H_2 S 反应的假一级反应动力学常数(k_{obs})约为 2.1 × 10^{-3} s⁻¹, 二级反应动力学常数(k_2)为 10.5 L/(mol·s),与其它 NBD 基亲核取代型 H_2 S 荧光探针的常数的数量级

相当[18,26],表明探针可作为一种快速检测 H₂S 的荧光关闭型探针。

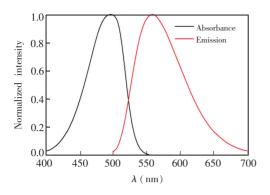


图 1 探针 NBD-M 在 PBS 溶液中的紫外吸收和荧光 发射归一化光谱

Fig. 1 Normalized ultraviolet-visible and fluorescence spectra of probe NBD-M in phosphate buffer solution (PBS)

为了测试探针对 H_2S 的选择性, 向探针 (10 μ mol/L)的 PBS 溶液 (0.02 mol/L, pH 7.4)中,加入200 μ mol/L的各种潜在干扰物质(K^+ 、

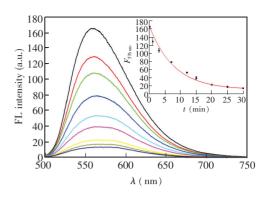


图 2 在 PBS 溶液中, 探针 NBD-M (10 μ mol/L)与 H_2S (200 μ mol/L)的荧光响应曲线, 插图为探针在 576 nm 波长处荧光强度随时间的拟合曲线

Fig. 2 Time-dependent fluorescence spectra of probe NBD-M ($10~\mu mol/L$) upon reaction with H_2S ($200~\mu mol/L$) in PBS solution. Inset is emission intensity at 576 nm versus reaction time

 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_2^- 、HClO、Vc、 KO_2 、 SO_3^{2-} 、 H_2O_2 、Hcy 、Cys、 GSH、 H_2S),测试其荧光发射光谱(λ_{ex} = 490 nm)。如图 3 所示, H_2S 可使探针的荧光显著降低,而其它物质不会明显改变探针的荧光强度,表明探针 NBD-M 对 H_2S 的荧光响应具有较高的选择性。

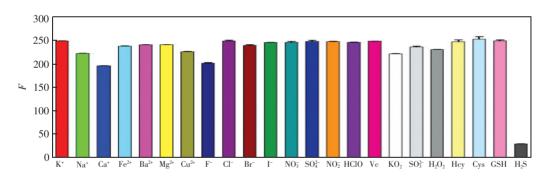


图 3 在 PBS 溶液中,不同物质(200 μmol/L)存在下探针 NBD-M (10 μmol/L)在 576 nm 波长处的荧光响应 Fig. 3 Fluorescent response of probe NBD-M (10 μmol/L) at 576 nm in the presence of various species (200 μmol/L) in PBS solution

为了评估探针对 H_2S 的检测灵敏性,进行了荧光滴定实验。向探针溶液(10 μ mol/L) 中依次加入不同浓度(0~100 μ mol/L)的新配 H_2S 溶液,孵育 15 \min ,探针与 576 \min 处的最大发射峰荧光强度逐渐增强(图 4A)。如图 4B 所示,在 5~50 μ mol/L 浓度范围内, H_2S 的浓度与探针的荧光强度呈现良好的线性关系,其线性方程为 y=266.13-3.43x (r=0.9942),检出限为 0.125 μ mol/L (S/N=3),与已报道文献相当[26]。上述结果表明,探针 NBD-M 可定量检测 H_2S 的浓度,具有较高的灵敏度。

探针与 H_2S 反应后,探针最大紫外吸收峰发生明显红移(电子版文后支持信息图 S3)。文献报道,探针与 H_2S 反应后,产物 NBD-SH 具有明显的颜色 [26,27]。向探针溶液(10 μ mol/L)中加入 0、10、20、30、40、50、75 和 100 μ mol/L 的新配 H_2S 溶液,室温孵育 5 min 后,可明显观察到溶液由淡黄色变为紫色,并且随着 H_2S 加入量的增加,溶液紫色逐渐加深(图 5)。基于探针溶液的颜色变化与不同 H_2S 浓度之间的相关性,可简便地半定量检测水样中 20 μ mol/L H_2S 。因此,探针 NBD-M 可实现对 H_2S 的比色和荧光双通道检测。

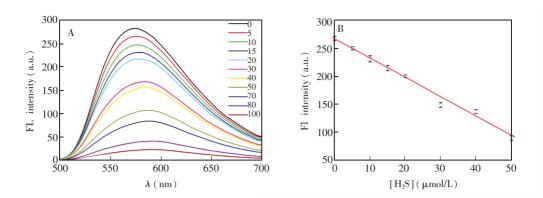


图 4 (A)探针 NBD-M(10 μ mol/L)与 H_2S 的荧光滴定曲线;(B) 荧光强度与 H_2S 的浓度的线性关系曲线

Fig. 4 (A) Fluorescence titration curve of probe NBD-M (10 μ mol/L) in the presence of different concentrations of H₂S in PBS solution; (B) Lnear relationship between the fluorescence intensity of probe and the concentrations of H₂S



图 5 探针 NBD-M (10 μ mol/L)溶液加入不同浓度 H_2S (0 ~ 100 μ mol/L)后孵育 5 min 后的颜色变化

Fig. 5 Photographs of probe NBD-M in the presence of different concentrations of H,S after incubation for 5 min

3.3 探针对 H_2S 的识别机制研究

为了研究探针与 H_2S 的识别机制,向探针溶液中加入等摩尔数的 H_2S ,测试了探针与 H_2S 反应前后的核磁共振氢谱。探针 1 位和 2 位芳香氢的化学位移分别为 6.67 和 8.51 ppm,与 H_2S 反应后,此位置芳香氢的化学位移分别 7.00 ppm 和 8.07 ppm 移动到 7.42 ppm。结合探针与 H_2S 反应的紫外吸收光谱和溶液颜色变化,推测探针与 H_2S 发生如图 6 所示的亲核取代反应。

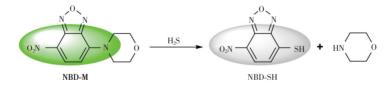


图 6 探针 NBD-M 探针对 H,S 的识别机制

Fig. 6 Recognition mechanism of probe NBD-M to H₂S

3.4 探针对细胞内 H,S 荧光成像研究

荧光关闭型荧光探针已被报道用于内源性 H_2S 的成像研究 $[^{33-35]}$ 。利用四唑盐 (MTT) 比色法,对探针的细胞毒性进行评价,发现探针在浓度低于 50 μ mol/L 时,细胞存活率高于 90%,可用于细胞实验研究(电子版文后支持信息图 S4)。

一些小分子胺类基团(如吗啉、N,N-二甲基胺等)本身具有碱性,含有此类结构的荧光探针能够选择性地积累在弱酸性细胞器,实现溶酶体定位功能。利用商品化溶酶体定位探针(Lyso-Tracker Red)进行细胞器共定位成像研究。如图 7 所示,向 HeLa 细胞加入含有 20 nmol/L 共定位探针 Lyso-Tracker Red 和 10 μ mol/L 探针 NBD-M 的培养基,共孵育 15 min,可观察到两个探针光谱重叠良好,共定位皮尔森相关系数为 $0.93^{[36]}$,表明探针具有良好的溶酶体定位能力。

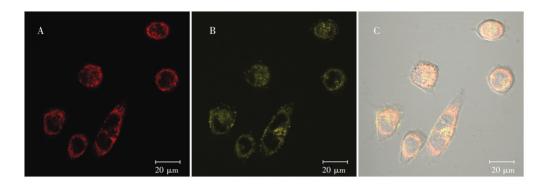


图 7 探针 NBD-M 的溶酶体共定位成像:(A)商品化溶酶体共定位探针 Lyso-Tracker Red 的荧光场图;(B)探针 NBD-M 荧光场图;(C)A 和 B 的叠加图

Fig. 7 Colocalization imaging of lysosomes in HeLa cells using probe NBD-M: (A) Fluorescence image of Lyso-Tracker Red; (B) Fluorescence image of NBD-M; (C) Merged images of A and B

利用探针对细胞内 H_2S 进行荧光成像研究。如图 8 所示,HeLa 细胞在含有 10 $\mu mol/L$ 探针的培养基中孵育 15 min,可观察到明显的黄色荧光(图 8A);先孵育 100 $\mu mol/L$ H_2S 30 min,再孵育探针 15 min,黄色荧光明显降低(图 8B);先孵育 200 mol/L H_2S 30 min,再孵育探针15 min,黄色荧光基本完全消失(图 8C)。荧光成像实验表明,探针 NBD-M 能够用于 HeLa 细胞溶酶体内 H_2S 的成像研究。

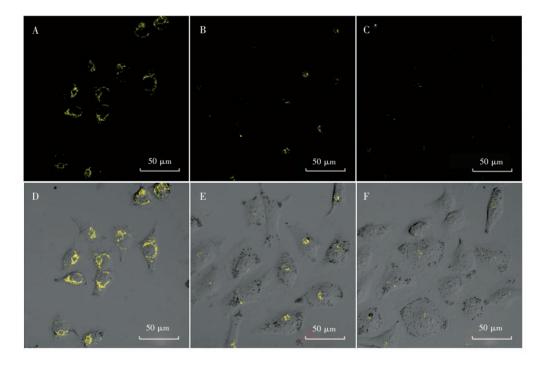


图 8 探针 NBD-M 培养的 HeLa 细胞荧光共聚焦成像, $A \sim C$ 为荧光场图, $D \sim F$ 为叠加图: (A,D) 10 μ mol/L探针; (B,E)先加入 100 μ mol/L H₂S 孵育,再加入 10 μ mol/L 探针; (C,F)先加入 200 μ mol/L H₃S 孵育,再加入 10 μ mol/L 探针

Fig. 8 Confocal fluorescence imaging of H_2S in HeLa cells using probe NBD-M (A-C: fluorescence images, D-F: merged images) : (A, D) Incubation by 10 μ mol/L probe; (B, E) Incubation by 100 μ mol/L H_2S firstly, then by 10 μ mol/L probe; (C, F) Incubation by 200 μ mol/L H_2S firstly, then by 10 μ mol/L probe

4 结论

合成了一种新型比色-荧光双通道探针 NBD-M,能够高选择性和高灵敏识别 $\mathrm{H_2S}$ 。探针与 $\mathrm{H_2S}$ 反应

后,溶液颜色由无色逐渐变为紫色,能够裸眼检测含 20 μ mol/L H_2S 的水样,具有一定的应用前景。此探针能够靶向 H_2S 细胞溶酶体,可用于细胞内 H_2S 的成像研究。

References

26

- 1 Szabo C. Nat. Rev. Drug Discov., 2007, 6(11): 917-935
- 2 Li L, Rose P, Moore P K. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 2011, 51: 169-187
- 3 Wallace J. L., Wang R. Nat. Rev. Drug Discov., 2015, 14(5): 329-345
- 4 Kimura H, Shibuya N, Kimura Y. Antioxid. Redox Sign., 2012, 17(1): 45-47
- 5 Kamoun P, Belardinelli M C, Chabli A, Lallouchi K, Chadefaux-Vekemans B. Am. J. Med. Genet. A, 2003, 116A(3): 310-311
- 6 Fiorucci S, Antonelli E, Mencarelli A, Orlandi S, Renga B, Rizzo G, Distrutti E, Shah V, Morelli A. Hepatology, 2005, 42(3): 539-548
- 7 Paul B D, Snyder S H. Antioxid. Redox Sign., 2015, 22(5): 411-423
- 8 Furne J, Saeed A, Levitt M D. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 2008, 295(5): R1479-R1485
- 9 Kolluru G K, Shen X, Bir S C, Kevil C G. Nitric Oxide, 2013, 35: 5-20
- 10 Radford-Knaery J, Wang J. Anal. Chem., 1993, 65(8): 976-982
- 11 Lawrence N S, Deo R P, Wang J. Anal. Chim. Acta, 2004, 517(1-2): 131-137
- 12 Gu X, Liu C, Zhu Y C, Zhu Y Z. Tetrahedron Lett., 2011, 52(39): 5000-5003
- 13 Ishigami M, Hiraki K, Umemura K, Ogasawara Y, Ishii K, Kimura H. Antioxid. Redox Sign., 2009, 11(2): 205-214
- 14 GAO Min, YU Fa-Biao, CHEN Ling-Xin. *Prog. Chem.*, **2014**, 26(6): 1065–1078 高 敏, 于法标, 陈令新. 化学进展, **2014**, 26(6): 1065–1078
- 15 Lin V S, Chen W, Xian M, Chang C J. Chem. Soc. Rev., 2015, 44(14): 4596-4618
- 16 Bruemmer K J, Brewer T F, Chang C J. Curr. Opin. Chem. Biol., 2017, 39: 17-23
- 17 Lippert A R, New E J, Chang C J. J. Am. Chem. Soc., 2011, 133(26): 10078-10080
- 18 Zhou G D, Wang H L, Ma Y, Chen X Q. Tetrahedron, 2013, 69(2): 867-870
- 19 Montoya L A, Pluth M D. Chem. Commun., 2012, 48(39): 4767-4769
- 20 Xuan W, Pan R, Cao Y, Liu K, Wang W. Chem. Commun., 2012, 48(86): 10669-10671
- 21 Zhao C C, Zhang X L, Li K B, Zhu S J, Guo Z Q, Zhang L L, Wang F Y, Fei Q, Luo S H, Shi P, Tian H, Zhu W H. J. Am. Chem. Soc., 2015, 137(26): 8490-8498
- 22 Lv J, Wang F, Qiang J, Ren X T, Chen Y H, Zhang Z J, Wang Y, Zhang W, Chen X Q. Biosens. Bioelectron., 2017, 87: 96-100
- 23 Qian Y, Karpus J, Kabil O, Zhang S Y, Zhu H L, Banerjee R, Zhao J, He C. Nat. Commun., 2011, 2: 495
- 24 Chen Y C, Zhu C C, Yang Z H, Chen J J, He Y F, Jiao Y, He W J, Qiu L, Cen J J, Guo Z J. Angew. Chem. Int. Ed., 2013, 52(6): 1688-1691
- 25 ZHONG Ke-Li, ZHAO Jie, LI Qiu-Ying, HOU Shu-Hua, TANG Yi-Wei, BIAN Yan-Jiang, TANG Li-Jun. *Chin. J. Org. Chem.*, **2018**, 38(7): 1786–1791 钟克利, 赵 杰, 李秋莹, 侯淑华, 汤轶伟, 边延江, 汤立军. 有机化学, **2018**, 38(7): 1786–1791
 - Wei C, Wei L, Yi L, Xi Z. Tetrahedron Lett., 2013, 54(50): 6937-6939
- 27 Hammers M D, Pluth M D. Anal. Chem., 2013, 86(14): 7135-7140
- 28 Zhang C Y, Wei L, Wei C, Zhang J, Wang R Y, Xi Z, Yi L. Chem. Commun., 2015, 51(35): 7505-7508
- 29 Ma C, Wei C, Li X Y, Zheng X Y, Chen B, Wang M, Zhang P Z, Li X L. Dyes Pigments, 2019, 162: 624-631
- 30 Wei C, Wang R Y, Zhang C Y, Xu G C, Li Y Y, Zhang Q Z, Li L Y, Yi L, Xi Z. Chem. Asian J., 2016, 11(9): 1376-1381
- 31 Jia X, Li W, Guo Z H, Guo Z B, Li Y, Zhang P Z, Wei C, Li X L. Chemistryselect, 2019, 4(29): 8671-8675
- 32 Zhang J, Wang R Y, Zhu Z T, Yi L, Xi Z. Tetrahedron, 2015, 71(45): 8572-8576
- 33 Ozdemir T, Sozmen F, Mamur S, Tekinay T, Akkaya E U. Chem. Commun., 2014, 50(41): 5455-5457
- 34 Xu Z Y, Wu Z Y, Tan H Y, Yan J W, Liu X L, Li J Y, Xu Z Y, Dong C Z, Zhang L. *Anal. Methods*, **2018**, 10(27): 3375–3379

- 35 Fang T, Jiang X D, Sun C L, Li Q. Sens. Actuators B, 2019, 290; 551-557
- 36 Zinchuk V, Zinchuk O. Prog. Histochem. Cyto., 2009, 44: 125-172

A Novel Colorimetric and Fluorescent Probe for Detection of Hydrogen Sulfide

WANG Xiao-Li¹, YAO Meng^{1,2}, LI Yin¹, WEI Chao¹, WANG Mei *1,2

¹(College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

²(The Flame Retardant Material and Processing Technology Engineering Research Center of Hebei Province, Baoding 071002, China)

Abstract To detect the level of hydrogen sulfide (H_2S) in the environment and living beings, a colorimetric and fluorescent turn-off probe based on selective thiolyling of NBD (7-nitro-1,2,3-benzoxadiazole) amino was prepared through one-step organic synthesis. The selectivity and sensitivity of the probe were investigated by using sodium sulfide as an H_2S donor in PBS buffer. The fluorescent intensity of the probe exhibited good linear relationship with concentration of H_2S in the concentration range of 5–50 μ mol/L, and the detection limit was estimated to be 0.125 μ mol/L. The color of the solution changed from light yellow to light violet. The cell survival rate was higher than 90% when the concentration of the probe was below 50 μ mol/L. The results of cell imaging experiments showed that the probe could be used for imaging H_2S in the lysosomes of the cells.

Keywords Hydrogen sulfide; Colorimetric detection; Fluorescent probe; Cell imaging

(Received 28 July 2019; accepted 4 November 2019)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province, China (Nos. B2019201418, B2018201234), the Colleges and Universities Science Technology Research Project of Hebei Province, China (NO. QN2017015), and the Science Technology Research and Development Guidance Programme Project of Baoding City, China (NO. 18ZF315).

六、国际论文被引用次数排名世界第2,保持不变

2009 年至 2019 年(截至 2019 年 10 月)中国科技人员共发表国际论文 260.64 万篇,继续排在世界第 2 位,数量比 2018 年统计时增加了 14.7%;论文共被引用 2845.23 万次,增加了 25.2%,排在世界第 2 位。美国仍然保持在世界第一位。

七、材料科学等三个学科领域论文被引用次数世界第1

中国有6个学科产出论文的比例超过世界该学科论文的20%,分别是:材料科学、化学、工程技术、计算机科学、物理学和数学。材料科学、化学和工程技术论文的被引用次数排名世界第1位,其中,化学和工程技术均为首次排名第一。

八、国际合著论文继续增加,参与国际大科学合作论文增多

2018 年中国发表的国际论文中,国际合著论文为 11.08 万篇,比 2017 年增加了 1.34 万篇,增长了 13.8%。国际合著论文占中国发表论文总数的 26.5%。

九、进入世界本学科前列的中国科技期刊数量增加

据 2019《中国科技期刊引证报告》,中国科技核心期刊的影响因子平均值为 0.689,2001 年以来年均增长率为 5.8%,期刊的总被引频次均值为 1410 次,2001 年以来年均增长率为 11.6%。2018 年,SCI 数据库收录中国科技期刊 187 种,比 2017 年增加了 14 种; Ei 数据库收录中国科技期刊 223 种;Medline 收录中国科技期刊 128 种。

十、中文优秀论文和中国作者通过 F5000 平台走向世界

F5000 平台(f5000. istic. ac. cn), 自上线以来,已获得641.4 万次检索。吸引了来自美国、加拿大、英国、俄罗斯、日本、德国等50 个国家的国际用户访问,其中来自美国的访问量超过10万次。同时,F5000 也越来越受到广大科研人员的认可,成为一种新型的基于高质量导向的代表作评价工具。