



## 评述

# 乙烯聚集诱导发光探针在生物成像和药物递送中的应用研究进展

苏珊<sup>1</sup>, 马宇帆<sup>1</sup>, 田立枚<sup>1</sup>, 王卓<sup>1,2\*</sup>

1. 北京化工大学理学院, 化工资源有效利用国家重点实验室, 北京软物质科学与工程高精尖创新中心, 北京 100029

2. 湖南大学化学化工学院, 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 长沙 410082

\*通讯作者, E-mail: wangzhuo77@mail.buct.edu.cn

收稿日期: 2017-02-17; 接受日期: 2017-04-10; 网络版发表日期: 2017-07-14

国家自然科学基金(编号: 21575032)、中央高校科研业务费(编号: buctrc201607, PYBZ1707)、湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室开发课题和北京分子科学国家实验室开发课题资助项目

**摘要** 基于聚集诱导发光(AIE)机制的生物传感器具有灵敏度高、高量子产率、便于合成等优点, 所以具有AIE特性的有机小分子得到了科研工作者的广泛关注. 随着对AIE分子结构和理论知识的深入认识, 针对细胞或微生物结构特点设计合成的可与细胞或微生物特异性结合的有机荧光分子, 可准确、便捷、有效地实现对细胞或微生物的成像和靶向药物递送, 对扩展有机分子探针的生物应用具有重要的推动作用. 本文将重点阐述近几年具有AIE特性的四苯乙烯衍生物荧光分子在细胞和微生物识别成像, 靶向递送和抗菌性能方面的应用, 为后续研究工作提供借鉴和指导.

**关键词** 聚集诱导发光, 探针, 生物成像, 药物递送, 抗菌

## 1 引言

近年来, 荧光有机分子在生化检测、生物成像和有机光致发光器件等领域的研究日新月异, 尤其在生物检测方面更是发展迅猛. 优秀的生物荧光探针需具备较高的灵敏性和较好的选择性的特征. 传统的有机荧光分子在稀溶液中呈现出较强荧光且荧光量子产率高, 使其在化学、生物和材料等很多领域有着广泛的应用, 但是随着荧光分子在溶液中浓度的增加或变为固态时, 体系荧光降低或直接被猝灭, 在一定程度上阻碍了荧光材料性能的最好发挥. 这是典型的聚集导致发光猝灭(aggregation-caused quenching, ACQ)现象<sup>[1-2]</sup>. 例如, 有机荧光分子探针在检测应用方面的优选工作条件是水, 但是大多数的探针分子是疏水性芳烃, 在水溶液条件下会沉淀或聚集, 因此这些有机荧光分子发生ACQ现象而影响它们在检测应用或其他方面应用的荧光强度和使用寿命<sup>[1]</sup>. 针对这一发光问题, 人们经过不断实验和探索, 2001年, 唐本忠教授课题组<sup>[3]</sup>研发出一类具有特殊荧光性质的有机分子. 这类分子克服了传统有机荧光分子的缺陷, 在溶液状态下荧光很弱或几乎不发光, 荧光分子在聚集态或固态时呈现很强的荧光且荧光量子产率很高.

这类具有特殊荧光性质的有机分子最开始被发现的结构是1-甲基-1,2,3,4,5-五苯基硅杂环戊二烯

**引用格式:** 苏珊, 马宇帆, 田立枚, 王卓. 乙烯聚集诱导发光探针在生物成像和药物递送中的应用研究进展. 中国科学: 化学, 2017, 47: 1075–1084  
Su S, Ma Y, Tian L, Wang Z. Research progress on aggregation induced emission probes with tetraphenylethene structure for biological imaging and drug delivery. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 1075–1084, doi: 10.1360/N032017-00028

(1-methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilole, MPPS), 该分子在良溶剂中几乎没有荧光. 当在不良溶剂中呈聚集状态或固态时, 荧光强度显著增强<sup>[4]</sup>, 将这种现象命名为聚集诱导发光(aggregation-induced emission, AIE), 由此开创了有机荧光分子发展的新领域. 关于AIE分子发光的机制, 唐本忠教授课题组<sup>[5]</sup>最初提出的是分子内旋转受限(restriction of intramolecular rotation, RIR)机理, 随着对AIE分子结构的不断研究, 最新的发光机理解释为分子内运动受限(restriction of intramolecular motion, RIM)<sup>[6]</sup>. AIE现象的分子在聚集状态或固态时, 分子内运动受到限制, 故发出很强的荧光, 而ACQ分子的荧光生色团多为具有大 $\pi$ 共轭体系的刚性平面分子, 在稀溶液中具有很高的荧光量子产率, 但在聚集状态下, 分子间的相互作用导致了非辐射能量转换或形成了不利于荧光发射的物种<sup>[7]</sup>.

AIE分子的发现, 为许多实际应用领域带来新的革命, 其可作为化学传感器<sup>[8]</sup>、生物探针<sup>[9]</sup>、应激反应<sup>[10]</sup>等材料的研究基础. 有机分子传感器的研究和发展对于生命领域的研究进展具有重要的作用, 荧光发光基团通过化学修饰或物理过程连接生物和化学分子、合成新结构作为生物标记或探针分子对生物成像和药物递送领域的研究具有重要的贡献. 因为这类分子保持着AIE分子的特性, 在成像方面具有高分辨率、低噪声的特点, 同时在实际应用时, 可与靶向分子结合, 实现靶向细胞成像的同时也可以产生诊疗效果<sup>[11]</sup>. 利用有机荧光分子较好的光稳定、高亮度、较宽的光吸收、狭窄的光发射<sup>[12,13]</sup>等特性可有效提高细胞成像质量, 通过合成具有不同AIE结构的分子, 可观察到它们呈现蓝色、绿色、黄色、红色等不同的荧光. 唐本忠教授课题组<sup>[14-16]</sup>发现了silole结构具有AIE性质后, 设计合成了一系列silole衍生物, 这些典型的silole衍生物以单分子状态分散在良溶剂中没有荧光或荧光非常弱, 在不良溶剂或薄膜状态时荧光强度变得很强. silole衍生物溶于乙醇中时, 溶液中无荧光, 荧光量子产率为0.06%<sup>[17]</sup>. 但是, 其在薄膜状态时, 荧光量子产率达到85%, 而且聚集态相比于溶液状态时, 荧光量子产率也增加了1417倍.

随后发展的具有AIE性质的四苯乙烯(TPE)类化合物与silole相比, 合成更简单、结构更多样化, 在光电器件<sup>[16,18]</sup>、化学检测<sup>[19-20]</sup>和生物成像及检测<sup>[21-22]</sup>等应用方面也得到了很好的拓展. 本文将重点研究具有

AIE特性的TPE类化合物<sup>[23]</sup>. 如图1所示, TPE结构呈现螺旋桨式<sup>[24,25]</sup>, 乙烯基与芳香基团共轭不共平面, 它的合成方法相对于silole类结构更简单、发光性能优良、易修饰功能化, 这有利于研究者对TPE分子进行深入研究. 自从唐本忠教授课题组<sup>[26]</sup>报道了TPE分子具有AIE特性后, 基于TPE结构的衍生物成为很多研究组的热门研究材料, TPE衍生物分子在荧光检测领域也占据着越来越重要的地位.

TPE的可塑性很强, 可以连接不同的亲水或疏水基团, 不同小分子或高分子结构, 在生物领域的应用越来越受研究者的重视<sup>[27]</sup>. 例如, 在TPE上连接一些功能性基团, 如吡啶盐、季铵盐、吡啶类、含氮杂环及一些多肽等, 可使修饰后的分子既能保持AIE特点, 又能发挥一些特定功能. 具体的生物应用包括细胞成像、亚细胞结构成像及功能监测、细胞中活性成分分析、微生物成像及辨别分析等<sup>[28,29]</sup>. 而且, TPE结构分子与其他识别基团结合时仍然保持很好的AIE特性, 因此它在生物领域应用非常广泛. 例如, 2008年, Hong等<sup>[30]</sup>设计合成的化合物1, 如图2所示, 可检测生物体内的DNA分子. 化合物1连接有4个亲水性的季铵盐分子, 大大增加了化合物1探针在溶液中的溶解性. 在生物体外测试中, 在含有此探针的溶液中加入DNA模板HG21, 溶液荧光大大增强, 但是当加入 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 等离子溶液时, 荧光就有所减弱. Zhang等<sup>[31]</sup>设计合成的TPE衍生物, TPE-red-COOH (化合物2, 图2)可自组装为纳米尺寸的生物灵敏探针, 且能特异性靶向HSA (human serum albumin). 该探针中共轭连接的芳环结构易被HSA中的疏水腔识别; TPE连接的双氰结构, 可

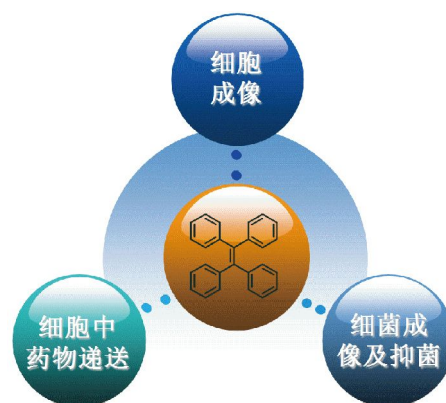


图1 TPE的化学结构及其在生物靶向分析中的应用(网络版彩图)

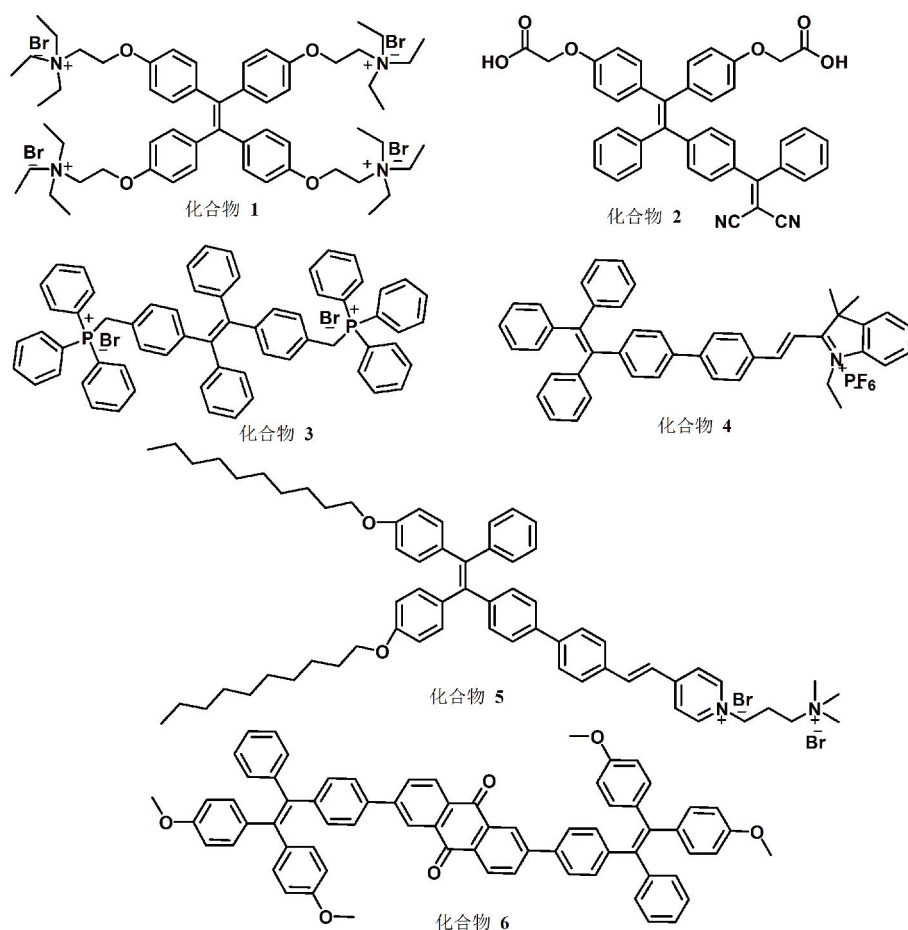


图 2 化合物1~6的结构

使分子发光波长移向长波段; TPE主链上的双羧酸官能团易与HSA中的具有正电荷的氨基酸结构相互作用, 可以增强探针与HSA的相互识别。

Zhang等<sup>[32]</sup>合成的TPE类化合物连接有一个磺酸盐基团, 可与精氨酸通过静电和疏水作用形成聚合物, 从而高通量地筛选胰蛋白酶抑制剂。当探针分子与精氨酸结合可明显检测到荧光信号增强, 加入胰蛋白酶这种增强的荧光信号减弱。后续工作中, Zhang等<sup>[33]</sup>将两个磺酸盐基团修饰到四苯乙烯结构上, 合成的探针分子可定量检测牛奶中的酪蛋白, 从而展现出了在食品分析领域的应用前景。

现如今, 细胞成像技术已发展成一项相对成熟的技术, 该项技术的迅速发展深化了人们在分子水平上对生物化学过程的了解。有机荧光探针分子进入组织和细胞, 在荧光显微镜下不仅可以观察到固定的组织和细胞切片结构, 而且还能实时地观察和检测活的细

胞和亚细胞结构以及细胞中的分子物质, 这对于人们了解生命活动具有重要的意义。

基于细胞成像的基础, 有机荧光探针分子可用于研究肿瘤细胞的组织结构, 并可追踪观察肿瘤细胞的特征<sup>[34]</sup>。研究者将TPE分子与识别官能团结合, 通过化学或物理方法进一步修饰成可靶向的复合探针和载体结构。TPE分子在药物递送方面的研究也越来越多, 通过用高分子材料修饰使探针分子易穿透生物膜进入细胞或细菌, 释放药物达到诊疗目的<sup>[35]</sup>。研究者通过将TPE分子上连接靶向基团或相关治疗的药物结构, 在实现靶向和递送的同时保持TPE分子的发光性质, 犹如在细胞内安装了照明灯, 可使研究者更清晰地探索细胞的组织结构及细胞生命代谢活动。

虽然如今的生活条件愈来愈好, 但是随之而来的卫生和食品安全问题却层出不穷, 这些问题所引起的疾病大多都跟致病微生物有关。如何研究这些细菌并

能使这些尺寸微小的细菌可视化、可辨别、可消除,是我们关注的主要问题.微生物种类繁多,如何正确地快速识别微生物仍然是具有挑战性的工作.传统的方法有培养法、基因序列识别法、表面加强拉曼光谱等,但是因耗时长、成本高、操作复杂等原因而不能广泛普及<sup>[36]</sup>.荧光检测技术被认为是快捷、简单和灵敏的细菌检测方法.现如今,致病菌引起的疾病治疗主要还是依靠抗生素,但是随之而来的问题日渐突出.例如,致病菌出现耐药抗药性,而对致病菌和多药耐药致病菌的分析检测技术还亟待提升.现有的检测分析方法耗时较长,依赖高端仪器设备和技术人员,发展新的微生物检测分析方法对食品检测和生物医药领域都具有重要的应用前景.

## 2 TPE衍生物生物成像分析应用研究

### 2.1 TPE衍生物在细胞成像分析中的应用

#### 2.1.1 TPE衍生物在细胞中的成像及追踪中的应用

TPE是AIE荧光分子中重要的一类,在溶液中处于分散状态时荧光很弱或没有荧光,而处于聚集态时荧光显著增强.例如,相对于TPE分子,含有氟离子的1-异氰酸基-3,5-双-(三氟甲基)苯修饰的TPE-氨基结构,可使整个分子的荧光量子产率增加,再包裹上聚琥珀酰亚胺可合成小尺寸的纳米颗粒TPE-F NPs(动态光散射(DLS):~10 nm)<sup>[37]</sup>,该纳米颗粒进入到人宫颈癌细胞系(HeLa)细胞中可标记由精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸组成的肽链,并使HeLa细胞成像.TPE-F NPs纳米颗粒的生物相容性好、荧光强度大、稳定性高.在后续的研究中,研究者利用多肽或高分子纳米材料对已合成的生物荧光探针进行修饰,可增强探针分子的生物相容性和靶向性.将发绿色荧光的连接有两个TPE分子的噻二唑(BTPETD)分子和发红色荧光连接有两个TPE分子的苯基富马腈(TPETPAFN)分子用聚乙二醇(PEG)材料进行修饰<sup>[38]</sup>,通过纳米沉积形成的并包含有荧光探针分子的纳米结构,不仅能实现肿瘤细胞的成像,而且可分别标记大鼠胶质瘤细胞(C6 cell)和人成纤维肉瘤细胞(HT1080),并通过在癌症细胞中的荧光变化追踪癌症细胞的代谢情况.其性能胜过市场上售卖的无机半导体量子点探针.因此,有机荧光纳米材料在此领域呈现出潜在的应用价值.

#### 2.1.2 TPE衍生物在细胞中的线粒体成像

TPE-TPP是通过在TPE对位上连接两个带正电荷的三苯基膦基团,从而增加此分子探针的水溶性(化合物3,图2).由于三苯基膦对线粒体有高度的靶向和特异性识别作用,而TPE可聚集发光,所以合成的TPE-TPP探针可用于细胞内线粒体成像<sup>[39]</sup>.线粒体是大多数细胞内的细胞器,是细胞制造能量的结构,是细胞进行有氧呼吸的主要场所.线粒体除了为细胞供能外,还参与诸如细胞分化、细胞信息传递和细胞凋亡等过程,并拥有调控细胞生长和细胞周期的能力.所以,研究细胞内线粒体可以让人们进一步了解细胞内的生命活动.TPE-TPP探针相对以往的商用线粒体探针,不仅有高效的线粒体靶向和非常好的光稳定性,而且随着线粒体膜电位变化,它的荧光强度依然稳定,因此可用于线粒体长程追踪.图3说明了在HeLa细胞中,TPE-TPP相对商用线粒体靶向染料MitoTracker® Red FM (MT)光稳定性好.HeLa细胞分别用TPE-TPP和MT染色后,在经过抑制ATP的合成,可使线粒体膜电位降低(CCCP)处理后,MT染色的细胞荧光明显减弱了,而TPE-TPP染色的细胞荧光依然很强.对此Tang等<sup>[39]</sup>给出的解释是,TPE-TPP含有两个正电荷,所以在靶向线粒体后,阳离子引起的膜电位变化范围很宽,故尽管CCCP降低了膜电位,但膜电位在范围内变化.

TPE-TPP虽然能靶向线粒体且成像效果很好,但是不能检测线粒体膜电位的变化,而TPE-indo可以.Wang等<sup>[40]</sup>发现,连接有一个吡啶盐分子的四苯乙烯可以靶向线粒体,如图4所示,通过分别计算TPE-TPP和TPE-indo探针分子的静电势,发现TPE-TPP探针表面的正电荷要比TPE-indo多.因此,TPE-indo探针与线粒体之间的静电相互作用较弱,能反映线粒体膜电位的变化乃至反映细胞的凋亡状况.带有正电荷的TPE-indo探针分子受到线粒体膜电位的驱使更易于进入线粒体,并在线粒体和细胞质中聚集,实现对线粒体的靶向成像.通过与商业化的线粒体染料共定位和线粒体免疫荧光定位,证实TPE-indo探针确实能定位细胞中的线粒体,并能追踪线粒体的活动.通过对HeLa细胞用降低膜电位的缬氨霉素处理(缬氨霉素是呼吸链抑制剂,通过增加线粒体内膜对K<sup>+</sup>的通透性,抑制氧化磷酸化作用产生)<sup>[41]</sup>,同时分别用TPE-indo和商用线粒体靶向染料JC-1染细胞,分析荧光强度变化结果,发现TPE-indo探针更明显地指示线粒体膜电位的变化以及

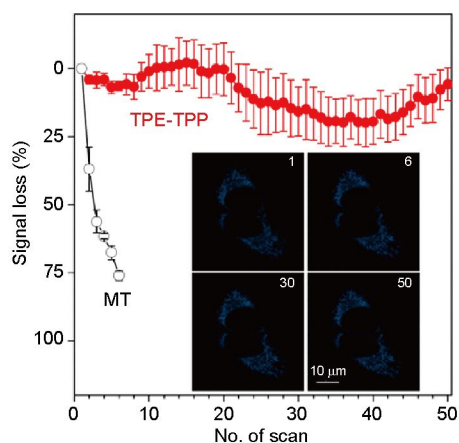


图3 TPE-TPP荧光发射信号损失(插图: TPE-TPP (5  $\mu$ M)染色HeLa细胞, 随着扫描次数变化的荧光变化图(共扫描1~50次, 右上角的数字表示扫描次数)<sup>[39]</sup> (网络版彩图)

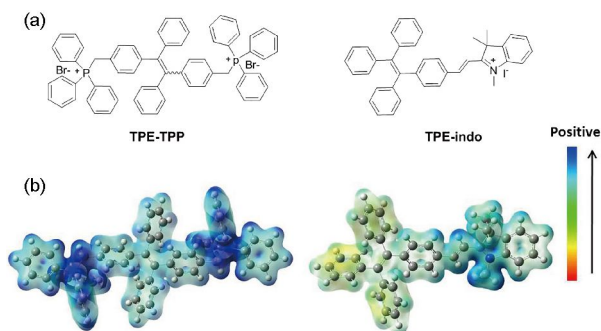


图4 (a) TPE-TPP和TPE-indo化学结构; (b) TPE-TPP和TPE-indo结构表面的静电势等值面<sup>[40]</sup> (网络版彩图)

反应细胞凋亡情况。

TPE-indo的结构在细胞中可以聚集发光, 因此可使细胞染色。像一般商业用染料如四甲基罗丹明甲脂、四甲基罗丹明乙酯等在线粒体成像应用中存在细胞毒性大、选择性低、光稳定性差等缺点。TPE-indo结构在应用中着色更稳定、有很好的光稳定性和较低的细胞毒性, 而且因为基于AIE的荧光性质具有背景光低的特点, 从而简化了细胞处理过程, 更方便实际细胞染色操作。2015年, Tang等<sup>[42]</sup>也对四苯乙烯结构进行吡啶化修饰(化合物4, 图2)。他们发现, 发红色荧光的TPE-Ph-In探针也能使线粒体成像和指示线粒体膜电位变化。

### 2.1.3 具有靶向识别功能的TPE衍生物

2016年, Maiti课题组<sup>[43]</sup>巧妙地设计合成出如图5所

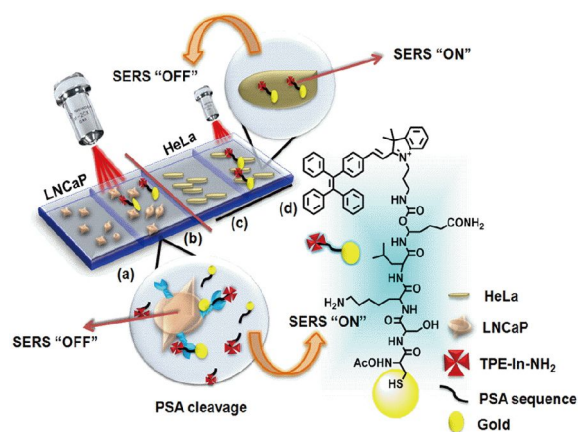


图5 TPE-In-PSA@Au纳米探针的工作机制图<sup>[43]</sup> (网络版彩图)

示的探针分子。该探针分子中TPE-In部分呈现AIE性质, 再与能特异性识别人前列腺癌细胞(LNCaP)的前列腺抗原的特异性抗体Cys-Ser-Lys-Leu-Gln-OH (PSA)共轭相连, 选用纳米胶质金做衬底, 合成一种TPE-In-PSA@Au纳米探针, 这是一种新的开关型表面增强拉曼散射光谱(surface-enhanced Raman scattering, SERS)<sup>[44-49]</sup>。该探针是针对前列腺癌诊断的荧光加强型分子。彻底根治前列腺癌疾病, 目前还是比较棘手的问题, 而且提前预防及检测还要等待科学技术的不断发掘创新。Au是IB族金属, 其d电子和s电子的能隙较大, Au不易发生带间跃迁, 因此具有较好的表面增强拉曼信号, Maiti等<sup>[43]</sup>合成的TPE-In-PSA衍生物分子能吸附在纳米Au表面, 复合纳米材料表现出极强的表面拉曼散射信号, 可展开前列腺癌诊断的新途径。TPE-In-PSA@Au纳米SERS探针因为与LNCaP癌症细胞的PSA酶存在抗原抗体的一对一关系, 而PSA在LNCaP中过度表达, 故可以靶向LNCaP细胞并能准确地检测到PSA的表达情况, 这一切可以直观地通过SERS能谱分析和绘图。SERS技术被广泛应用于生物传感检测领域, 它以生物成分为敏感元件或探测对象, 将分子间的运动转化为清晰明显的拉曼散射峰, 这是一种原位、实时检测的技术<sup>[50]</sup>。因此, TPE-In-PSA分子利用此技术可以提早做好前列腺癌的预防工作。图5是探针分子工作机制图。在TPE-In-PSA@Au探针与癌细胞靶向前发生ACQ现象, 用SERS照射有强烈的信号, 这主要由胶质纳米金引起。探针与癌细胞靶向后, 被PSA酶剪断PSA序列, 纳米金被释放, 再次照

射SERS时就产生荧光信号, 发生AIE现象, 而SERS就没有信号了。

量子点又称为半导体纳米微晶体, 是近几年发展起来的纳米材料, 是直径在1~100 nm的纳米粒子, 具有宽的激发光谱、窄的发射光谱、可精确调谐的发射波长、可忽略的光漂白等优越的荧光特性, 可以很好地用于荧光标记。Liu课题组<sup>[51]</sup>受此启发合成了AIE量子点纳米材料。含双氰结构的季铵盐TPE探针分子可以检测追踪动物脂肪干细胞及干细胞增殖状况。长期以来, 检测干细胞和相关的治疗医学项目一直存在诸多困难, 如果能长期地、持续地、准确地追踪干细胞的生长增殖及分化, 能为临床医学治疗提供重要的信息<sup>[52,53]</sup>。TPE纳米量子点TPETPAFN可以长程标记动物脂肪干细胞。文献中合成的TPETPAFN是D-A结构, 这种分子具有分子内电荷转移(ICT)性质, 自身荧光量子产率有所降低。与1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[(聚乙二醇(2000))马来酰亚胺(DSPE-PEG2000-maleimide)纳米沉积后荧光强度和稳定性都明显增加, 再与脂肪肽链共轭连接, 所组成的TPE量子点纳米材料可靶向脂肪干细胞, 追踪脂肪干细胞45 d, 荧光依然可检测到。经过小鼠实验验证, TPETPAFN分子选择性高、光物理性能稳定、生物相容性好。

2016年, Ding等<sup>[54]</sup>通过自组装方法合成的高灵敏度的四苯乙烯与多肽链分子[TPE-GFFYK(DVEDEE-Ac)]结构可实现对癌细胞凋亡的可视化。Caspase-3会导致癌细胞的凋亡, TPE-GFFYK (DVEDEE-Ac)探针可与其特异性结合, 导致探针聚集, 实现荧光的增强。该探针分子检测凋亡癌细胞中的Caspase-3的最低检测浓度为0.54 pM。

## 2.2 TPE衍生物分子在细胞药物递送中的应用

基于细胞膜外呈负电性, 研究者通过TPE与带正电荷的结构相连, 可使组成的分子更容易靶向细胞。Hu等<sup>[55]</sup>以click反应修饰具有识别功能的多肽结构到TPE基团上, 得到的TPE衍生物可以作为光敏感剂感知可见光。如图6所示, 共轭连接多肽链(AP2H)后合成TPE-red-2AP2H探针, 该探针不仅使癌细胞成像强度增强, 而且能够特异性识别实体癌细胞上的LAPTM4B蛋白, 进入细胞后在可见光的照射下产生单线态氧, 从而杀死癌细胞。这一过程称为光动力治疗。光动力是现代医疗临床中进行疾病诊断和治疗的一种新技术。

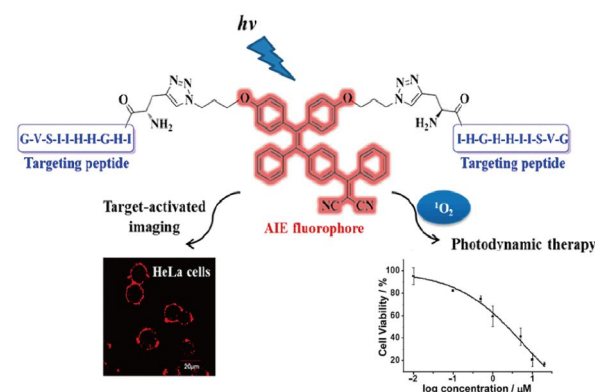


图6 TPE-red-2APAH的工作机制图<sup>[55]</sup> (网络版彩图)

主要是光敏剂与靶向组织和细胞产生反应, 特定光照之后发生作用, 导致靶向细胞坏死的治疗技术。Liu等<sup>[56-60]</sup>利用TPE结构设计合成了一些具有光动力治疗功能的功能分子。例如, 设计合成的光敏感的化合物6, 该化合物是D-A-D结构, 在聚集状态有很强的ICT现象<sup>[61]</sup>, 会导致化合物荧光变弱, 光照时也不会有单线态氧的产生。该课题组为解决这一问题, 用嵌段共聚物DSPE-PEG-Mal包裹化合物, 并形成壳状聚合物AIE量子点。该AIE量子点的荧光量子产率达到3.9%, 单线态的量子产率为38%, 并且能进入MDA-MB-231细胞, 利用光动力原理杀死癌细胞。

Liu等<sup>[62]</sup>设计合成的指令型药物递送探针(Ac-DEVVK-TPE)可在细胞内结合合适的酶抑制剂致使细胞凋亡。该课题组设计的探针中的叠氮功能化TPE荧光团受到外部刺激时脱落, 由于是疏水性结构, 故在细胞中聚集发生荧光。DEVK是Asp-Glu-Val-Asp肽链, 遇到caspase-3/-7可被特异性裂解, 也能增加整个探针的亲水性。快功能化的赖氨酸衍生物是连接DEVK和TPE荧光团的桥梁。探针进入细胞后与caspase-3/-7结合前没有荧光, 结合后释放DEVK部分, 荧光信号明显增强并驱动caspase-3/-7使细胞凋亡。为了说明Ac-DEVVK-TPE探针只在含有细胞凋亡蛋白酶(caspase-3/-7)的溶液中有荧光现象, 用Ac-DEVVK-TPE探针分别处理正常的人乳腺癌细胞系(MCF-7)细胞和凋亡的MCF-7细胞, 细胞核用红色试剂盒处理。分析结果发现, 正常的细胞除了细胞核有荧光外, Ac-DEVVK-TPE探针没有荧光信号。凋亡的细胞由于含有caspase-3/-7, 可特异性裂解Ac-DEVVK-TPE探针为K-TPE, K-TPE是疏水性结构, 在细胞中聚集发光。所以, 在细胞质中发现荧光信号。

## 2.3 TPE衍生物在微生物成像分析中的应用

### 2.3.1 TPE衍生物分子在微生物中成像与识别

Chen等<sup>[63,64b]</sup>通过设计合成具有聚集诱导发光性质的TPE小分子,构建了一种由5种探针组成的荧光阵列.当和细菌发生相互作用后,发出不同的荧光信号,已发表的研究成果和后续的研究都证明,这种聚集发光TPE小分子在发出强荧光信号时通常伴随着纳米级颗粒的形成(图7).同种细菌和5种不同探针的相互作用不同,所发出荧光不同.不同细菌和同种探针的相互作用也不同,所发出荧光也有差别.这样就形成了荧光阵列.应用流式细胞仪收集不同探针孵育的细菌的荧光值,利用统计数学处理方法(主成分分析和二次判别),将该荧光阵列成功用于8种细菌的分类检测,可实现普通细菌和临床分离的多药耐药细菌的成功检测.这项结果在临床诊断中具有重要意义,未来可用于为抗生素的用药提供指导.

Li等<sup>[65]</sup>设计合成了可使革兰氏阴性菌成像的探针TPEC-Man-PSMA. TPE-Man-PSMA结构中TPE为荧光团,甘露糖(Man)可特异识别大肠杆菌表面的FimH蛋白,苯乙烯-马来酸酐共混静电纺丝(electrospun polystyrene-co-maleic anhydride, PSMA)可形成网状结构困住大肠杆菌.该探针分子浓度一定时,随着大肠杆菌浓度越大,检测到荧光强度越强,说明探针形成的网状结构困住的大肠杆菌越多. Fan等<sup>[66]</sup>设计合成了带有正电荷的TPEPyE探针可特异性识别带有负电荷的脂多糖(LPS).脂多糖是革兰氏阴性菌细胞壁中的一种成分,是革兰氏阴性菌表面的抗原物质. TPEPyE探针在溶液中荧光很弱,但与阴性菌细胞壁表面的LPS特异性结合,会使探针在细菌表面聚集并发出荧光信号,可通过共聚焦成像检测到.而与革兰氏阳性菌共培养时没有检测到荧光.故该探针可高灵敏和高选择性地区分革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌.

### 2.3.2 TPE衍生物在微生物中的成像及抗菌作用

Liu等<sup>[36]</sup>利用TPE分子的特性,设计合成了可识别革兰氏阳性菌并有杀菌功能的分子TPE-2Van.如图8所示,探针TPE-2Van中TPE为荧光团部分, Van可靶向革兰氏阳性菌.该抗菌分子水溶性很好,低浓度在水溶液中没有荧光,当与革兰氏阳性菌结合时发出荧光. Liu等<sup>[36]</sup>针对TPE-2Van是否产生活性氧物质,做了对

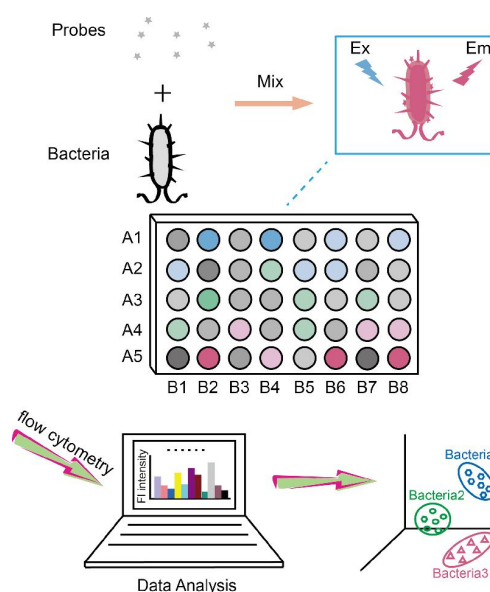


图7 设计5种探针传感阵列实现8种细菌的识别<sup>[63]</sup>(网络版彩图)

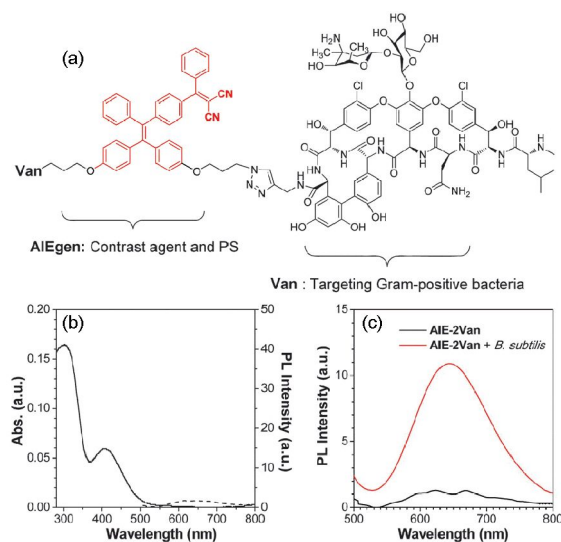


图8 (a) AIE-2Van的化学结构; (b) AIE-2Van的紫外-可见光吸收图谱; (c) AIE-2Van和AIE-2Van在*B. subtilis*细菌存在时的荧光光谱图<sup>[36]</sup>(网络版彩图)

比实验.在可见光下照射, TPE-2Van探针分别与革兰氏阳性菌和阴性菌培养, 9,10-蒽二丙酸(9,10-anthracenedipropionic acid, ABDA)<sup>[55]</sup>用以活性氧指示剂.分析结果表明, TPE-2Van探针只有靶向革兰氏阳性菌后,有活性氧物质产生,活性氧物质摧毁细菌细胞壁,使细菌死亡.

Tang课题组<sup>[67]</sup>在2015年设计合成了TPE-Bac探针分子(化合物5, 图2)。该探针分子连接两个长的烷基链和一个正电荷的脂肪胺, 使TPE-Bac探针成为亲油亲水两性分子。此分子在溶液中稳定并且荧光很弱, 当进入细菌时有较强的荧光, 荧光激发波长为405 nm。因此, 该分子可以使细菌成像。10  $\mu$ M TPE-Bac探针与细菌共培养24 h后, 结果分析表明, 此药物分子可以增加细菌膜的通透性, 从而增加对细菌的毒性。为证明TPE-Bac可以在可见光照射下产生单线态氧物质, 用绿色探针SOSG (singlet oxygen sensor green)来指示单线态氧物质, 分析结果表明, 在可见光的照射下TPE-Bac可产生活性氧物质, 进一步杀死细菌, 也为实现抗菌功能提供了双层保障。

### 3 结论

本文总结了具有聚集发光性质的四苯乙烯类分子探针在生物领域中的应用进展, 重点是在细胞和微

生物领域的研究成果。相对于传统有机荧光分子浓度增大易发生荧光猝灭的现象, TPE类分子探针在聚集状态下呈现出的较强的荧光和光稳定性, 同时背景荧光信号较弱, 使其在生物成像和分析领域有很重要的发展。TPE结构易于修饰, 使其在合成上具有明显的优势, 同时TPE结构可以实现多位点修饰, 即连接不同的识别基团, 从而增强其在生物分析领域的靶向识别功能。目前, TPE衍生物分子的生物相容性、选择性、灵敏性、荧光强度及荧光量子产率等特性都明显增强, 不仅能靶向细胞或微生物, 而且能实现高分辨成像并能达到治疗或监测生物功能的目的。未来在基于TPE的探针体系设计上, 在进行分子结构设计的同时, 可以关注结构和生物功能的关系, 探索作用机制, 在原理上开展一些深入的研究。同时, 可与微纳结构材料结合, 实现多功能化, 将生物成像、靶向递送、功能检测一体化。相信基于聚集发光机制的分子材料, 将会在生物医药领域具有更广阔的前景。

### 参考文献

- 1 Ma X, Sun R, Cheng J, Liu J, Gou F, Xiang H, Zhou X. *J Chem Educ*, 2016, 93: 345–350
- 2 Shi C, Guo Z, Yan Y, Zhu S, Xie Y, Zhao YS, Zhu W, Tian H. *ACS Appl Mater Interf*, 2013, 5: 192–198
- 3 Luo J, Xie Z, Lam JWY, Cheng L, Tang BZ, Chen H, Qiu C, Kwok HS, Zhan X, Liu Y, Zhu D. *Chem Commun*, 2001, 1740–1741
- 4 Hong Y, Lam JWY, Tang BZ. *Chem Commun*, 2009, 1: 4332
- 5 Hong Y, Lam JWY, Tang BZ. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 5361–5388
- 6 Mei J, Hong Y, Lam JWY, Qin A, Tang Y, Tang BZ. *Adv Mater*, 2014, 26: 5429–5479
- 7 Zhang S, Qin AJ, Sun JZ, Tang BZ. *Prog Chem*, 2011, 23: 623–636
- 8 Dong Y, Lam JWY, Qin A, Li Z, Sun J, Dong Y, Tang BZ. *J Inorg Organomet Polym Mater*, 2007, 17: 673–678
- 9 闫继明, 秦安军, 孙景志, 唐本忠. 科学通报, 2010, 5: 1206–1213
- 10 Taniguchi R, Yamada T, Sada K, Kokado K. *Macromolecules*, 2014, 47: 6382–6388
- 11 胡彬彬. 有机荧光分子的设计合成及应用研究. 博士学位论文. 浙江: 浙江大学, 2013. 1–147
- 12 Wang C, Xu B, Li M, Chi Z, Xie Y, Li Q, Li Z. *Mater Horiz*, 2016, 3: 220–225
- 13 Bai W, Shi Y, Song C, He J, Qin A, Sun JZ, Tang BZ. *Acta Chim Sin*, 2016, 74: 893–901
- 14 Liu J, Lam JWY, Tang BZ. *J Inorg Organomet Polym*, 2009, 19: 249–285
- 15 Chen J, Law CCW, Lam JWY, Dong Y, Lo SMF, Williams ID, Zhu D, Tang BZ. *Chem Mater*, 2003, 15: 1535–1546
- 16 Wang ZT, Fang Y, Sun JZ, Qin AJ, Tang BZ. *Sci China Chem*, 2013, 56: 1187–1190
- 17 Tang BZ, Zhan X, Yu G, Sze Lee PP, Liu Y, Zhu D. *J Mater Chem*, 2001, 11: 2974–2978
- 18 Yang J, Huang J, Li Q, Li Z. *J Mater Chem C*, 2016, 4: 2663–2684
- 19 Cai Y, Li L, Wang Z, Sun JZ, Qin A, Tang BZ. *Chem Commun*, 2014, 50: 8892–8895
- 20 Liu Y, Qin A, Chen X, Shen XY, Tong L, Hu R, Sun JZ, Tang BZ. *Chem Eur J*, 2011, 17: 14736–14740
- 21 Lou X, Zhuang Y, Zuo X, Jia Y, Hong Y, Min X, Zhang Z, Xu X, Liu N, Xia F, Tang BZ. *Anal Chem*, 2015, 87: 6822–6827
- 22 Zhuang Y, Huang F, Xu Q, Zhang M, Lou X, Xia F. *Anal Chem*, 2016, 88: 3289–3294
- 23 Zhan C, You X, Zhang G, Zhang D. *Chem Record*, 2016, 16: 2142–2160
- 24 Zhao D, Fan F, Cheng J, Zhang Y, Wong KS, Chigrinov VG, Kwok HS, Guo L, Tang BZ. *Adv Opt Mater*, 2015, 3: 199–202
- 25 祁清凯. 四苯乙烯类刺激响应变色分子的设计、合成及性质研究. 博士学位论文. 吉林: 吉林大学, 2016. 1–162

- 26 Dong Y, Lam JWY, Qin A, Liu J, Li Z, Tang BZ, Sun J, Kwok HS. *Appl Phys Lett*, 2007, 91: 011111
- 27 Qin A, Lam JWY, Tang BZ. *Prog Polymer Sci*, 2012, 37: 182–209
- 28 Zhang Y, Huang X, Liu W, Zhang G, Zhang D, Jiang X. *Sci China Chem*, 2016, 59: 106–113
- 29 Gui S, Huang Y, Hu F, Jin Y, Zhang G, Yan L, Zhang D, Zhao R. *Anal Chem*, 2015, 87: 1470–1474
- 30 Hong Y, Xiong H, Lam JWY, Häussler M, Liu J, Yu Y, Zhong Y, Sung HHY, Williams ID, Wong KS, Tang BZ. *Chem Eur J*, 2010, 16: 1232–1245
- 31 Yu Y, Huang Y, Hu F, Jin Y, Zhang G, Zhang D, Zhao R. *Anal Chem*, 2016, 88: 6374–6381
- 32 Xue W, Zhang G, Zhang D, Zhu D. *Org Lett*, 2010, 12: 2274–2277
- 33 Liu Y, Wang Z, Zhang G, Zhang W, Zhang D, Jiang X. *Analyst*, 2012, 137: 4654–4657
- 34 Huang Y, Hu F, Zhao R, Zhang G, Yang H, Zhang D. *Chem Eur J*, 2014, 20: 158–164
- 35 Huang Y, Zhang G, Hu F, Jin Y, Zhao R, Zhang D. *Chem Sci*, 2016, 7: 7013–7019
- 36 Feng G, Yuan Y, Fang H, Zhang R, Xing B, Zhang G, Zhang D, Liu B. *Chem Commun*, 2015, 51: 12490–12493
- 37 Xu S, Bai X, Ma J, Xu M, Hu G, James TD, Wang L. *Anal Chem*, 2016, 88: 7853–7857
- 38 Li K, Zhu Z, Cai P, Liu R, Tomczak N, Ding D, Liu J, Qin W, Zhao Z, Hu Y, Chen X, Tang BZ, Liu B. *Chem Mater*, 2013, 25: 4181–4187
- 39 Leung CWT, Hong Y, Chen S, Zhao E, Lam JWY, Tang BZ. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 62–65
- 40 Zhang L, Liu W, Huang X, Zhang G, Wang X, Wang Z, Zhang D, Jiang X. *Analyst*, 2015, 140: 5849–5854
- 41 Furlong IJ, Lopez Mediavilla C, Ascaso R, Lopez Rivas A, Collins MK. *Cell Death Differ*, 1998, 5: 214–221
- 42 Zhao N, Chen S, Hong Y, Tang BZ. *Chem Commun*, 2015, 51: 13599–13602
- 43 Ramya AN, Joseph MM, Nair JB, Karunakaran V, Narayanan N, Maiti KK. *ACS Appl Mater Interf*, 2016, 8: 10220–10225
- 44 Mattley Y, Allen MW. *Opt Photonik*, 2013, 8: 44–47
- 45 Narayanan N, Karunakaran V, Paul W, Venugopal K, Sujathan K, Kumar Maiti K. *Biosens Bioelectron*, 2015, 70: 145–152
- 46 Huh YS, Chung AJ, Erickson D. *Microfluid Nanofluid*, 2009, 6: 285–297
- 47 Ramya A, Samanta A, Nisha N, Chang YT, Maiti KK. *Nanomedicine*, 2015, 10: 561–571
- 48 Li S, Zhang Y, Xu J, Li L, Zeng Q, Lin L, Guo Z, Liu Z, Xiong H, Liu S. *Appl Phys Lett*, 2014, 105: 091104
- 49 Mistro GD, Cervo S, Mansutti E, Spizzo R, Colombatti A, Belmonte P, Zucconelli R, Steffan A, Sergio V, Bonifacio A. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407: 3271–3275
- 50 付翠翠, 梁丽佳, 齐国华, 徐抒平, 徐蔚青. 高等学校化学学报, 2015, 36: 2134–2147
- 51 Ding D, Mao D, Li K, Wang X, Qin W, Liu R, Chiam DS, Tomczak N, Yang Z, Tang BZ, Kong D, Liu B. *ACS Nano*, 2014, 8: 12620–12631
- 52 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. *Nature*, 2002, 418: 41–49
- 53 Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. *Nature*, 2001, 414: 105–111
- 54 Han A, Wang H, Kwok RTK, Ji S, Li J, Kong D, Tang BZ, Liu B, Yang Z, Ding D. *Anal Chem*, 2016, 88: 3872–3878
- 55 Hu F, Huang Y, Zhang G, Zhao R, Yang H, Zhang D. *Anal Chem*, 2014, 86: 7987–7995
- 56 Feng G, Wu W, Xu S, Liu B. *ACS Appl Mater Interf*, 2016, 8: 21193–21200
- 57 Yuan Y, Liu B. *Chem Sci*, 2017, 8: 2537–2546
- 58 Yuan Y, Zhang CJ, Gao M, Zhang R, Tang BZ, Liu B. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 1780–1786
- 59 Yuan Y, Zhang CJ, Kwok RTK, Xu S, Zhang R, Wu J, Tang BZ, Liu B. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 6586–6595
- 60 Chen C, Song Z, Zheng X, He Z, Liu B, Huang X, Kong D, Ding D, Tang BZ. *Chem Sci*, 2017, 8: 2191–2198
- 61 Yang Z, Qin W, Lam JWY, Chen S, Sung HHY, Williams ID, Tang BZ. *Chem Sci*, 2013, 4: 3725
- 62 Shi H, Kwok RTK, Liu J, Xing B, Tang BZ, Liu B. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 17972–17981
- 63 Chen W, Li Q, Zheng W, Hu F, Zhang G, Wang Z, Zhang D, Jiang X. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 13734–13739
- 64 (a) Wang M, Zhang G, Zhang D, Zhu D, Tang BZ. *J Mater Chem*, 2010, 20: 1858–1867b; (b) Li Y, Wu Y, Chang J, Chen M, Liu R, Li F. *Chem Commun*, 2013, 49: 11335–11337; (c) Ding D, Liang J, Shi H, Kwok RTK, Gao M, Feng G, Yuan Y, Tang BZ, Liu B. *J Mater Chem B*, 2014, 2: 231–238; (d) Ding D, Goh CC, Feng G, Zhao Z, Liu J, Liu R, Tomczak N, Geng J, Tang BZ, Ng LG, Liu B. *Adv Mater*, 2013, 25: 6083–6088; (e) Gu X, Yao J, Zhang G, Zhang C, Yan Y, Zhao Y, Zhang D. *Chem Asian J*, 2013, 8: 2362–2369; (f) Gu X, Zhang G, Wang Z, Liu W, Xiao L, Zhang D. *Analyst*, 2013, 138: 2427–2431
- 65 Zhao L, Chen Y, Yuan J, Chen M, Zhang H, Li X. *ACS Appl Mater Interf*, 2015, 7: 5177–5186
- 66 Jiang G, Wang J, Yang Y, Zhang G, Liu Y, Lin H, Zhang G, Li Y, Fan X. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 62–67
- 67 Zhao E, Chen Y, Wang H, Chen S, Lam JWY, Leung CWT, Hong Y, Tang BZ. *ACS Appl Mater Interf*, 2015, 7: 7180–7188

## Research progress on aggregation induced emission probes with tetraphenylethene structure for biological imaging and drug delivery

Shan Su<sup>1</sup>, Yufan Ma<sup>1</sup>, Limei Tian<sup>1</sup>, Zhuo Wang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> State Key Laboratory of Chemical Resource Engineering, Beijing Advanced Innovation Center for Soft Matter Science and Engineering, Faculty of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

<sup>2</sup> State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China

\*Corresponding author (email: [wangzhuo77@mail.buct.edu.cn](mailto:wangzhuo77@mail.buct.edu.cn))

**Abstract:** Aggregation-induced emission (AIE) probes show high sensitivity, high quantum yield and can be synthesized conveniently. Organic molecules with AIE characteristics have attracted much attention from scientists. With the exploration of molecular structure and theoretical knowledge of AIEs, the developed probes can image cells and microbes selectivity, and deliver drugs effectively, which has an important role in promoting the biological application of organic molecular probes. In this review, we focus on the application of tetraphenylethylene derivatives with AIE characteristics in cell and microbial recognition imaging, targeted delivery and antibacterial properties in recent years, and provide references for the follow-up research work.

**Keywords:** aggregation-induced emission, probes, biological imaging, drug delivery, antibacterial

**doi:** [10.1360/N032017-00028](https://doi.org/10.1360/N032017-00028)