

检测汞离子的比色-荧光双通道探针的设计合成及应用

李淑雅 魏超* 赵晗 王美*

(河北大学化学与材料科学学院, 药物化学与分子诊断教育部重点实验室,
河北省化学生物学重点实验室, 保定 071002)

摘 要 以 7-羟基吩恶嗪酮(试卤灵)为荧光团、硫代甲酸苯酯为汞离子(Hg^{2+})识别基团,经一步简单有机合成反应,制备了比色-荧光双通道探针 **NMP**。采用核磁共振氢谱(^1H NMR)、核磁共振碳谱(^{13}C NMR)和高分辨率质谱(HRMS)表征了探针结构,利用吸收光谱和荧光发射光谱测试了探针对于 Hg^{2+} 的选择性和灵敏度。光谱测试结果表明,探针对 Hg^{2+} 具有较好的选择性和检测灵敏度,检出限(3σ)为 17 nmol/L。反应溶液由淡黄色变为紫红色,可对溶液中 Hg^{2+} 进行比色检测,并可用于实际水样中 Hg^{2+} 的检测。采用 CCK-8 法测试了探针的细胞毒性,结果表明,在探针浓度低于 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞存活率高于 90%。共聚焦荧光显微成像结果表明,探针具有较好的细胞通透性,可对细胞内 Hg^{2+} 进行荧光成像。

关键词 汞离子; 荧光探针; 比色检测; 细胞成像

汞(Hg)是一种重金属元素,俗称水银,在自然界中主要以汞单质、汞盐和有机汞的形式存在,广泛用于化工、医疗、电子、冶金和铸造等领域^[1]。Hg 具有高毒性,易通过生物链在人体内富集,对人体胃肠道、肝肾和中枢神经系统等产生严重损伤^[2-4]。因此,汞离子(Hg^{2+})的快速定性和定量检测对化学、环境科学和生物医学等多学科领域具有重要意义。

Hg^{2+} 的传统检测方法包括原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、等离子体质谱法、高效液相色谱法和酶联免疫吸附法等。这些方法虽然可以实现对 Hg^{2+} 的灵敏、准确检测,但是操作繁琐、所需仪器昂贵,不利于 Hg^{2+} 的实时、快速检测。基于有机小分子的荧光探针方法具有合成简便、选择性可调和灵敏度高等优点,可用于细胞和活体无创检测,已成为检测生物标志物和环境污染物的热点研究领域。利用 Hg^{2+} 与 S 原子的强结合能力,研究者合成了多种 Hg^{2+} 荧光探针用于环境和生物体内 Hg^{2+} 的检测^[5-6],其中,以硫代甲酸苯酯作为识别基团的荧光探针最多,且发展最为迅速^[7-10]。基于硫代甲酸苯酯作为识别基团的 Hg^{2+} 荧光探针设计原理见图 1A。

多种经典染料具有酚羟基结构,易与硫代氯甲酸苯酯发生酯化反应,可高效制备检测 Hg^{2+} 的小分子荧光探针^[10-18]。Wang 等^[10]以苯并噻唑作为荧光团,发展了一种比率型荧光探针,通过 405 nm 和 525 nm 处荧光强度的比值变化,对溶液中的 Hg^{2+} 进行精确定量检测。Wu 等^[15]开发了以 6-羟基-2-萘醛为荧光团的打开型探针,可用于溶液中 Hg^{2+} 的检测。然而,上述探针的激发和发射波长较短,不适用于生物样本内 Hg^{2+} 的成像检测。Yuan 等^[16]以半萘染料为荧光团,硫代甲酸苯酯为识别基团,设计合成了近红外发射的荧光探针,实现了溶液、细胞和斑马鱼多种介质中 Hg^{2+} 的检测。综合利用比色型探针可裸眼观测待测物,长波长荧光背景干扰低、光损伤小和组织穿透性强的成像特点,发展可用于监测环境和生物样品中 Hg^{2+} 的比色-荧光双通道型探针是当前的研究热点。

试卤灵是一种经典的含羟基官能团的荧光染料,具有长的激发和发射波长、高荧光量子产率等光谱特点,可用于长波长荧光检测。同时,通过对其 7 位羟基进行修饰,可调控探针溶液颜色的变化,实现比色检测^[19]。通过对试卤灵 7-位羟基进行修饰,已实现对金属钡离子^[20-21]、氰根离子^[22]和氟离子^[23]等

2022-04-24 收稿; 2022-11-17 接受

国家自然科学基金项目(No. 21906038)、河北省自然科学基金项目(No. B2022201016)、河北省高等学校科学技术研究项目(No. QN2021019)和河北大学多学科交叉项目(No. DXK201907)资助。

* E-mail: weichao@hbu.edu.cn; wangmariam@163.com

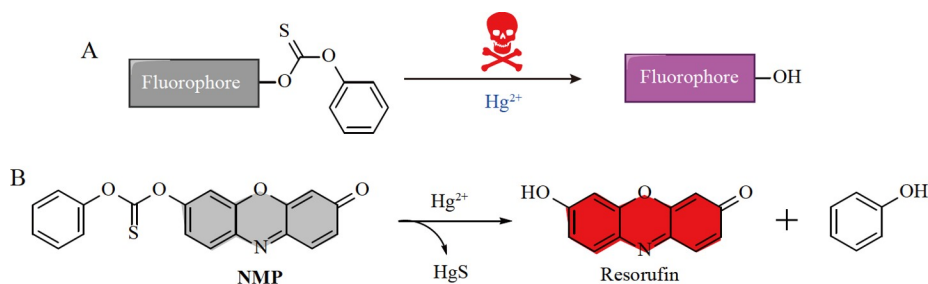


图1 基于硫代甲酸苯酯作为识别基团的汞离子荧光探针的设计原理示意图(A)及探针试卤灵硫代甲酸苯酯(NMP)对 Hg^{2+} 的识别示意图(B)

Fig.1 (A) Design strategy of probs for detection of Hg^{2+} using phenyl chloroformate as reactive group and (B) recognition mechanism of probe *O*-(3-oxo-3*H*-phenoxazin-7-yl) *O*-phenyl carbonothioate (NMP) prepared here for detection of Hg^{2+}

多种环境污染物的比色和荧光检测。本研究以试卤灵为荧光基团、硫代甲酸苯酯为 Hg^{2+} 识别基团,经一步有机合成,高效制备了新型比色-荧光双通道探针试卤灵硫代甲酸苯酯(*O*-(3-oxo-3*H*-phenoxazin-7-yl) *O*-phenyl carbonothioate, **NMP**),并考察了利用此探针检测溶液和细胞内 Hg^{2+} 的能力(图 1B)。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

WNMR-I 400 核磁共振仪(武汉中科牛津波谱公司); Q Exactive Focus 质谱仪(美国赛默飞公司); F-280 型荧光分光光度计(天津港东公司); T10 型分光光度计(北京普析通用公司); ST2100/F 型精密 pH 计(美国奥豪斯公司); ZF-7 型三用紫外分析仪(天津予华公司)。试卤灵、硫代氯甲酸苯酯和 *N,N*-二异丙基乙胺等试剂均购于上海毕得医药科技股份有限公司。所用试剂均为分析纯,实验用水为某品牌纯净水。

1.2 探针 NMP 的合成

探针 **NMP** 的合成见图 2。向两口烧瓶中依次加入试卤灵(211 mg, 1.00 mmol)、*N,N*-二异丙基乙胺(261 μL , 1.5 mmol)和 10 mL 二氯甲烷,搅拌均匀后,0 $^{\circ}\text{C}$ 下加入硫代氯甲酸苯酯(156 μL , 1.2 mmol),室温下反应至反应完全。向反应液中加入 10 mL 去离子水淬灭反应,经二氯甲烷萃取、无水硫酸钠干燥、减压蒸除溶剂、二氯甲烷重结晶,得到一种橘红色固体 **NMP**,产率为 89%。熔点 147.2~148.5 $^{\circ}\text{C}$ 。核磁共振氢谱(^1H NMR, $\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz), δ (ppm, $\times 10^{-6}$): 7.97 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.58~7.47 (m, 4H), 7.39~7.35 (m, 3H), 6.86 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 6.33 (s, 1H)。核磁共振碳谱(^{13}C NMR, $\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz), δ (ppm): 193.35、185.78、154.98、153.18、149.42、148.81、144.19、135.20、134.92、131.74、131.15、130.01、127.18、121.71、119.77、110.53、106.20。高分辨质谱 HRMS calcd for $\text{C}_{39}\text{H}_{12}\text{NO}_4\text{S}$ [$\text{M}+\text{H}^+$] 350.0487, found 350.0475。

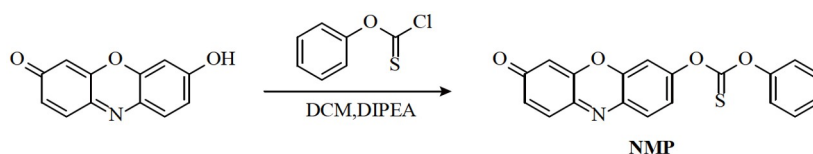


图2 探针 **NMP** 的合成路线及结构图

Fig.2 Synthesis route and structure of probe **NMP**

1.3 光谱测试

称取适量探针 **NMP** 溶解于二甲基亚砜(DMSO)溶液中,配制 2 mmol/L 探针母液。在磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4, 0.02 mol/L, 含 50%乙醇)中,室温下进行吸收和发射光谱测试。探针浓度选用 5 $\mu\text{mol/L}$, 激发波长设定为 575 nm, 激发和发射狭缝宽度均设定为 2 nm。各种潜在干扰物质均溶解于 PBS 溶液中,测

试浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.4 细胞成像

细胞成像操作详见电子版文后支持信息。将 HeLa 细胞分为 4 组,分别在细胞成像专用培养皿中贴壁培养。过夜培养后,均加入探针 **NMP** (300 nmol/L)孵育 30 min, 用 PBS 洗涤 3 次后,分别加入 Hg^{2+} (0、300、600 和 900 nmol/L)继续孵育 30 min, 用 PBS 洗涤 3 次,进行成像操作。成像用激发波长设定为 568 nm, 荧光采集波长范围为 590~640 nm。

2 结果与讨论

2.1 设计合成及结构表征

试卤灵是一种性质优良的氧杂蒽类荧光染料,其最大激发和发射波长均大于 550 nm, 并且在近中性环境中具有高荧光量子产率。对试卤灵 7 位羟基进行保护和脱保护,可以调控其荧光的关闭和开启。本研究以试卤灵为荧光基团、硫代甲酸苯酯为识别基团,经过一步有机合成反应,高产率制备了探针 **NMP**。此探针的结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 进行了确证(见电子版文后支持信息图 S1)。

2.2 识别性能研究

为了考察探针的反应性能,测试了探针 **NMP** 与 Hg^{2+} 反应的吸收光谱和荧光发射光谱。如图 3A 所示,随着反应的进行,探针溶液在 500~600 nm 范围内的吸收信号逐渐增强,最大吸收峰为 581 nm,并在 540 nm 处出现肩峰,溶液颜色也由淡黄色变为紫红色,这与试卤灵的吸收光谱和颜色一致^[19]。将最大吸收峰强度 ($A_{581\text{ nm}}$) 对反应时间进行拟合^[16],可以看到 10 min 后探针溶液的吸收信号基本稳定(图 3C)。计算得到探针与 Hg^{2+} 反应的一级反应动力学常数(k_{obs})和二级反应动力学常数(k_2)分别为 $6.67 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 和 $133.4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。同时,如图 3B 所示,探针本身荧光较弱,随着反应进行,598 nm 处最大发射峰逐渐增

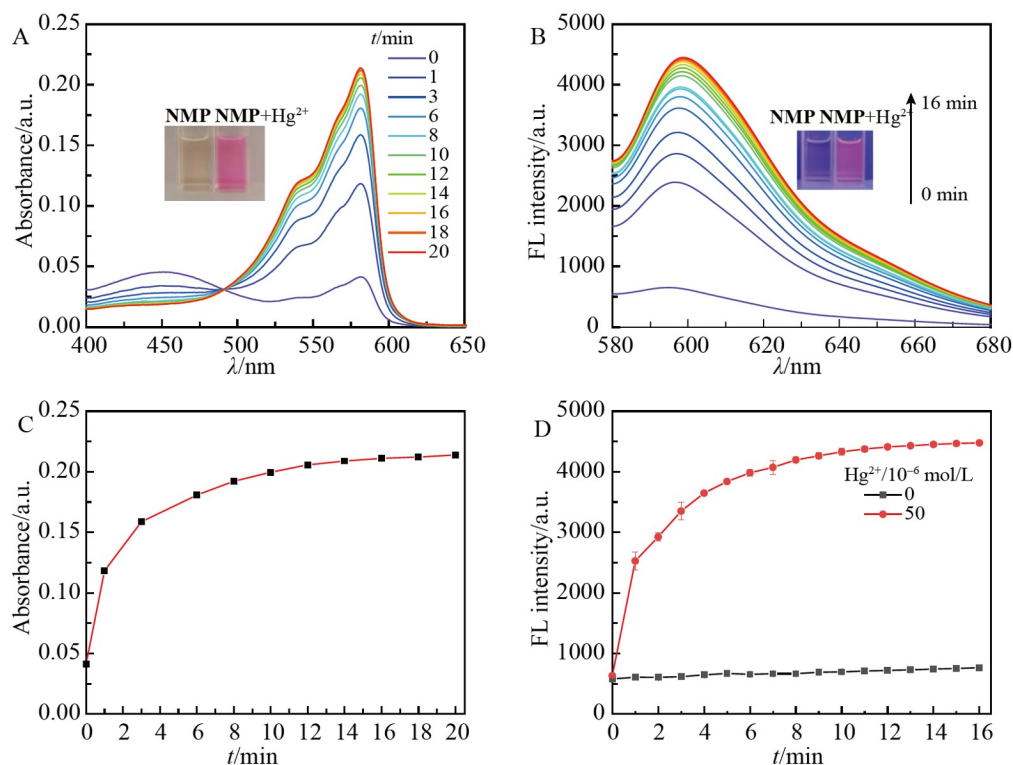


图3 探针 **NMP** (5 $\mu\text{mol/L}$) 与 Hg^{2+} (50 $\mu\text{mol/L}$) 反应的吸收光谱(A)和发射光谱(B); (C)探针 **NMP** (5 $\mu\text{mol/L}$) 与 Hg^{2+} (50 $\mu\text{mol/L}$) 反应溶液在 581 nm 处的吸收强度与反应时间的拟合曲线; (D)探针 (5 $\mu\text{mol/L}$) 与 Hg^{2+} (50 $\mu\text{mol/L}$) 反应溶液在 598 nm 处的荧光强度与反应时间的拟合曲线

Fig.3 Time-dependent absorption spectra (A) and fluorescence spectra (B) of probe **NMP** (5 $\mu\text{mol/L}$) in the presence of Hg^{2+} (50 $\mu\text{mol/L}$); (C) Time dependence of absorption intensity of probe **NMP** at 581 nm with Hg^{2+} (50 $\mu\text{mol/L}$); (D) Time dependence of emission intensity of **NMP** at 598 nm with Hg^{2+} (50 $\mu\text{mol/L}$)

强。计算得出探针与 Hg^{2+} 反应的 k_{obs} 和 k_2 分别为 $7.16 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 和 $143.3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (图 3D)。探针与 Hg^{2+} 的荧光反应动力学常数与吸收光谱反应动力学常数相当。因此,后续测试中探针与 Hg^{2+} 的反应时间均设为 10 min。

为了验证其它阳离子是否对 Hg^{2+} 的识别产生干扰,测试了探针 **NMP** 与多种金属离子反应的荧光光谱。向探针溶液 ($5 \mu\text{mol/L}$) 中加入 $50 \mu\text{mol/L}$ 金属离子 (Hg^{2+} 、 Ag^+ 、 Fe^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^+ 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 K^+ 、 Al^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Pd^{2+} 和 Mn^{2+}), 测试其发射光谱 (见电子版文后支持信息信息图 S2)。如图 4A 所示, 只有 Hg^{2+} 可引起探针溶液荧光显著增强。首先向探针溶液 ($5 \mu\text{mol/L}$) 中加入 $50 \mu\text{mol/L}$ 金属离子, 再加入 Hg^{2+} ($5 \mu\text{mol/L}$), 其荧光发射光谱如图 4B 所示, 探针对 Hg^{2+} 的荧光响应不受其它金属离子的干扰, 表明探针对 Hg^{2+} 具有高选择性。同时, 观察到只有探针与 Hg^{2+} 反应后, 溶液颜色由淡黄色明显地转变为紫红色, 并在紫外灯照射下发出明亮的红色荧光 (图 4C 和 4D)。上述结果表明, 探针 **NMP** 对 Hg^{2+} 具有高选择性, 可对其进行比色和荧光双通道检测。

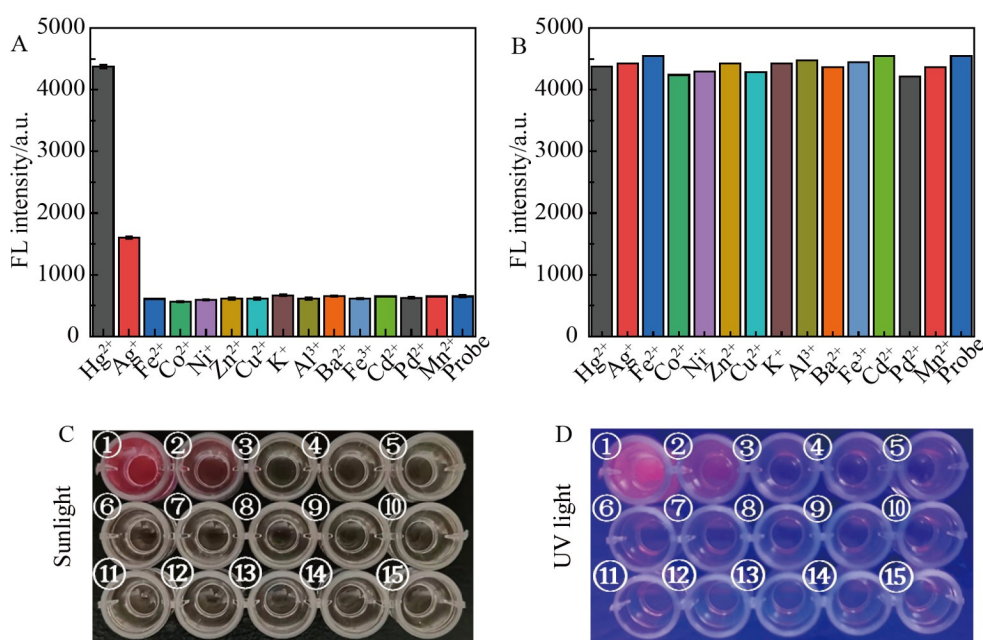


图4 (A) 探针 **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) 与不同金属离子 ($50 \mu\text{mol/L}$) 反应后的荧光强度; (B) 不同金属离子 ($50 \mu\text{mol/L}$) 存在下, Hg^{2+} ($50 \mu\text{mol/L}$) 加入后探针 **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) 在 598 nm 处的荧光强度; 日光 (C) 和 365 nm 紫外光 (D) 照射下探针 **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) 溶液与不同金属离子 ($50 \mu\text{mol/L}$) 作用后的颜色和荧光变化

Fig.4 (A) Fluorescence emission spectra of probe **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) after interacting with different metal ions ($50 \mu\text{mol/L}$); (B) Fluorescence intensity of probe **NMP** solution ($5 \mu\text{mol/L}$) with Hg^{2+} ($50 \mu\text{mol/L}$) in the presence of various metal ions ($50 \mu\text{mol/L}$); Fluorescence changes of probe **NMP** solution ($5 \mu\text{mol/L}$) interacting with different metal ions ($50 \mu\text{mol/L}$) under (C) sunlight and (D) UV lamp at 365 nm. 1-15: Hg^{2+} , Ag^+ , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} , K^+ , Al^{3+} , Ba^{2+} , Fe^{3+} , Cd^{2+} , Pd^{2+} , Mn^{2+} , Probe **NMP** only

由 $5 \mu\text{mol/L}$ 探针溶液与不同浓度 ($0 \sim 10 \mu\text{mol/L}$) Hg^{2+} 反应的荧光光谱 (图 5A) 可知, 探针在 598 nm 处的最大发射峰强度随着 Hg^{2+} 浓度的增加而逐渐增强。将探针在 598 nm 处的荧光强度与 Hg^{2+} 浓度进行拟合, 如图 5B 所示, 在 $17 \text{ nmol/L} \sim 10 \mu\text{mol/L}$ 浓度范围内, Hg^{2+} 浓度与探针在 598 nm 处的荧光强度具有良好的线性关系, 线性方程为 $y = 642.63 + 272.99x$ ($R^2 = 0.9980$), 检出限 (3σ) 为 17 nmol/L , 表明探针 **NMP** 对 Hg^{2+} 具有高灵敏度, 可对 Hg^{2+} 进行定量检测。

2.3 探针 **NMP** 对 Hg^{2+} 的识别机制研究

向探针溶液中加入等量 Hg^{2+} , 测试了探针与 Hg^{2+} 反应后的 ^1H NMR 和 HRMS。如图 6 和电子版文后支持信息图 S3 所示, 反应产物的 HRMS 测定值为 m/z 214.04962, 试卤灵的理论分子质量 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 为

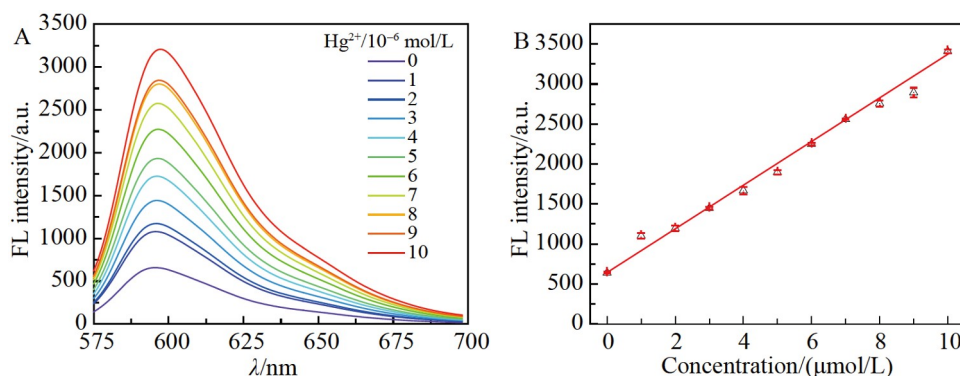


图5 (A) 探针 **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) 与不同浓度 ($0\sim 10 \mu\text{mol/L}$) Hg^{2+} 反应后的荧光光谱; (B) 探针 **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) 在 598 nm 处的荧光强度与 Hg^{2+} 浓度的线性关系曲线

Fig. 5 (A) Fluorescence spectra of probe **NMP** ($5 \mu\text{mol/L}$) after reaction with different concentrations of Hg^{2+} ($0\sim 10 \mu\text{mol/L}$); (B) Linear relationship between fluorescence intensity of probe **NMP** at 598 nm and concentration of Hg^{2+}

214.05042 , 偏差为 3.7×10^{-6} 。同时, 结合探针与 Hg^{2+} 反应溶液的吸收光谱和颜色变化, 推测可能的识别机制为探针的硫代甲酸苯酯结构被 Hg^{2+} 选择性脱除(图 6)。

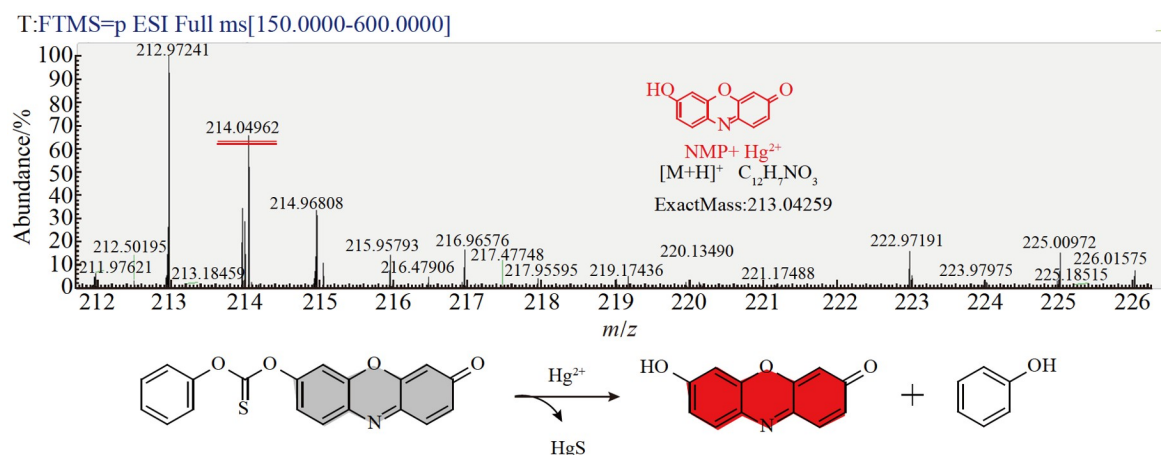


图6 探针 **NMP** 与 Hg^{2+} 反应产物的高分辨质谱 (HRMS) 图和荧光响应示意图

Fig. 6 High resolution mass spectrum (HRMS) of the reaction product of probe **NMP** and Hg^{2+} and the possible response mechanism

2.4 实际水样中 Hg^{2+} 的检测

为了评估探针的实际应用性能, 选取某品牌纯净水、白洋淀湖水和保定市北河沿河水 3 种水样, 测试探针检测实际水样中 Hg^{2+} 的能力。在乙醇-水 ($1:1, V/V$) 混合溶剂中, 加入探针 ($5 \mu\text{mol/L}$) 与 Hg^{2+} ($0\sim 10 \mu\text{mol/L}$), 测试 598 nm 处的荧光强度。探针在上述 3 种溶液中均具有良好的线性关系, 表明探针可在此范围内定量检测 Hg^{2+} (电子版文后支持信息图 S4)。3 种水样中 Hg^{2+} 的回收率为 $91\%\sim 105\%$ (表 1)。

2.5 荧光成像研究

具有长发射波长的荧光探针, 可有效降低生物样品背景荧光的成像干扰, 更适用于共聚焦荧光成像。首先, 利用 CCK-8 法测试了探针 **NMP** 的细胞毒性, 结果表明探针的细胞毒性较低 (电子版文后支持信息图 S5)。采用低浓度探针进行细胞成像研究, 如图 7 所示, 对照组 HeLa 细胞与探针 (300 nmol/L) 孵育 30 min 后, 未显示荧光 (图 7A); 在实验组细胞溶液中加入探针 (300 nmol/L) 孵育 30 min , 再加入 Hg^{2+} 溶液 (300 nmol/L) 继续孵育 30 min 后, 细胞发射微弱的红色荧光 (图 7B); 在实验组细胞溶液中进一步增加 Hg^{2+} 的浓度 (600 、 900 nmol/L), 细胞内的红色荧光明显增强 (图 7C 和 7D)。上述荧光成像实验结果表明, 探针 **NMP** 具有良好的生物兼容性和细胞通透性, 可对 HeLa 细胞内的 Hg^{2+} 进行荧光成像。

表1 实际水样中Hg²⁺的检测结果
Table 1 Detection results of Hg²⁺ in actual water samples

序号 No.	样品 Sample	加入值 Added/ (μmol/L)	检测值 Found/ (μmol/L)	回收率 Recovery/ %
1	纯净水	3.0	3.1	104
	Pure water	7.0	6.8	97
	湖水	3.0	2.7	91
2	Lake water	7.0	7.2	103
	河水	3.0	2.8	94
3	River water	7.0	7.4	105

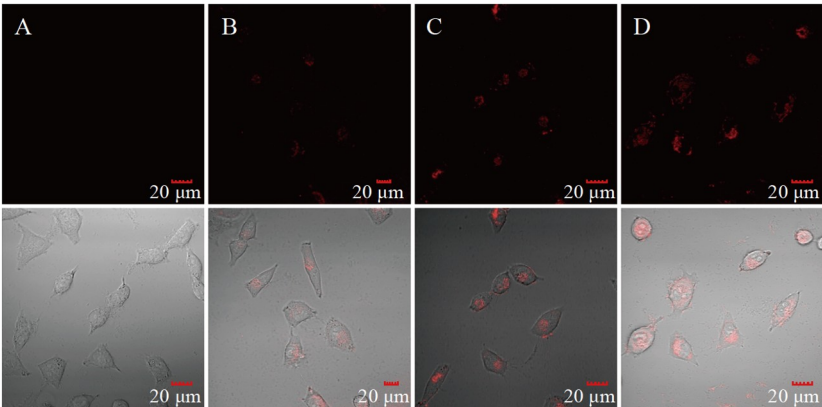


图7 HeLa 细胞共聚焦荧光成像：(A) 仅加入探针 **NMP** (300 nmol/L)；(B~D)先加入探针 **NMP** (300 nmol/L)孵育 30 min 后,再加入 Hg²⁺溶液(300、600 和 900 nmol/L)孵育 30 min
Fig.7 Confocal fluorescence imaging in HeLa cells: (A) Incubation with probe **NMP** (300 nmol/L) only; (B~D) Incubation with probe **NMP** (300 nmol/L) for 30 min firstly, then incubation for another 30 min in the presence of different concentrations of Hg²⁺ (300, 600 and 900 nmol/L)

3 结论

设计并合成了一种可对 Hg²⁺进行选择性检测的比色-荧光双通道探针 **NMP**。此探针与 Hg²⁺反应后,其硫代甲酸苯酯结构被选择性脱除,快速释放出试卤灵荧光团,溶液颜色由淡黄色变为紫红色,同时红色荧光明显增强。此探针对溶液中的 Hg²⁺具有高灵敏度,可用于实际水样中 Hg²⁺的定量检测。同时,此探针具有良好的生物兼容性和细胞通透性,可用于细胞内 Hg²⁺的荧光成像。

References

[1] NOLAN E M, LIPPARD S J. *Chem. Rev.* , 2008, 108(9): 3443-3480.
[2] HARRIS H H, PICKERING I J, GEORGE G N. *Science*, 2003, 301(5637): 1203.
[3] WATANABE N, TAYAMA M, INOUE M, YASUTAKE A. *J. Toxicol. Sci.* , 2012, 37(4): 853-861.
[4] CARVALHO C M L, CHEW E H, HASHEMY S I, LU J, HOLMGREN A. *J. Biol. Chem.* , 2008, 283(18): 11913-11923.
[5] WANG Y, ZHANG L, HAN X, ZHANG L, WANG X, CHEN L. *Chem. Eng. J.* , 2021, 406: 127166.
[6] CHEN S Y, LI Z, LI K, YU X Q. *Coord. Chem. Rev.* , 2021, 429: 213691.
[7] LOREDO A, WANG L, WANG S, XIAO H. *Dyes Pigm.* , 2020, 186: 109014.
[8] WANG Y, HOU X, LI Z, LIU C, HU S, LI C, XU Z, WANG Y. *Dyes Pigm.* , 2020, 173: 107951.
[9] RANI B K, JOHN S A. *J. Hazard. Mater.* , 2018, 343: 98-106.
[10] WANG L, CHEN H, ZHANG N, LIU X, ZHENG K. *Tetrahedron Lett.* , 2021, 64: 152735.
[11] YAN Y, ZHANG Y, XU H. *ChemPlusChem*, 2013, 78(7): 628-631.
[12] SHU W, YAN L, LIU J, WANG Z, ZHANG S, TANG C, LIU C, ZHU B, DU B. *Ind. Eng. Chem. Res.* , 2015, 54(33): 8056-8062.

- [13] SHU W, WANG Y, WU L, WANG Z, DUAN Q, GAO Y, LIU C, ZHU B, YAN L. *Ind. Eng. Chem. Res.* , 2016, 55(32): 8713-8718.
- [14] ZHANG C, ZHANG H, LI M, ZHOU Y, ZHANG G, SHI L, YAO Q, SHUANG S, DONG C. *Talanta*, 2019, 197: 218-224.
- [15] WU X, LI Y, YANG S, TIAN H, SUN B. *Microchem. J.* , 2020, 157: 105024.
- [16] YUAN G, LV H, LIU H, HE H, SUN Q, ZHANG X, WANG S. *Dyes Pigm.* , 2020, 183: 108674.
- [17] WU X, LI Y, YANG S, TIAN H, SUN B. *Dyes Pigm.* , 2020, 174: 108056.
- [18] CUI W L, ZHANG Z H, WANG L, QU J, WANG J Y. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2022, 267: 120516.
- [19] TIAN L, FENG H, DAI Z, ZHANG R. *J. Mater. Chem. B*, 2021, 9(1): 53-79.
- [20] YAN J, WANG X, TAN Q, YAO P, TAN J, ZHANG L. *Analyst*, 2016, 141(8): 2376-2379.
- [21] NIEBERDING M, TRACEY M P, KOIDE K. *ACS Sens.* , 2017, 2(11): 1737-1743.
- [22] LEE J H, JANG J H, VELUSAMY N, JUNG H S, BHUNIYA S, KIM J S. *Chem. Commun.* , 2015, 51(36): 7709-7712.

Synthesis and Application of Colorimetric and Fluorescent Dual Mode Probe for Detection of Mercury Ion

LI Shu-Ya, WEI Chao*, ZHAO Han, WANG Mei*

(Key Laboratory of Chemical Biology of Hebei Province, Key Laboratory of Medicinal Chemistry and
Molecular Diagnosis (Ministry of Education), College of Chemistry and Materials Science,
Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract To detect the level of mercury ions (Hg^{2+}) in the environment and organism, a colorimetric and fluorescent dual mode probe employing resorufin as fluorophore and benzene thiocarbonate as reactive group was prepared through one-step organic synthesis. The exact structure of the probe was confirmed by proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR), carbon nuclear magnetic resonance (^{13}C NMR) and high resolution mass spectrometry (HRMS). The probe displayed high selectivity and sensitivity to Hg^{2+} in PBS buffer, and the detection limit was estimated to be 17 nmol/L (3σ). The color of the solution changed from light yellow to aubergine. The probe could quantitatively detect Hg^{2+} in actual water samples. The cytotoxicity of the probe was verified by cell counting kit-8 (CCK-8) method, and it was found that the cell survival rate was higher than 90% when the concentration of the probe was below 10 $\mu\text{mol/L}$. The results of cell imaging experiments showed that the probe had good cell permeability and could be used for imaging Hg^{2+} in living cells.

Keywords Mercury ion; Fluorescent probe; Colorimetric detection; Cell imaging

(Received 2022-04-24; accepted 2022-11-17)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21906038), the Natural Science Foundation of Hebei Province, China (No. B2022201016), the Foundation of Hebei Education Department (No. QN2021019) and the Natural Science Interdisciplinary Research Program of Hebei University (No. DXK201907).