

识别酪胺的咔唑类荧光探针合成与应用

刘圆^{1,2}, 董林毅¹

(1. 天津医科大学药学院药物分析学系, 天津 300070; 2. 诺维信(中国)生物技术有限公司, 天津 300457)

摘要 目的: 基于激发态分子内质子转移(ESIPT)机制, 研发一种用于酪胺检测的新型小分子荧光探针 CPIM。方法: 通过 4-(9H-咔唑-9-基)苯胺和 3,5-二碘水杨醛反应缩合得到咔唑类小分子荧光探针 CPIM, 采用核磁共振氢谱、红外光谱、高分辨质谱表征其结构。通过紫外光谱和荧光光谱等方法研究荧光探针对于酪胺的检测性能。通过 Job's 曲线、红外光谱和核磁共振氢谱对检测机制进行研究。采用标准加入法验证荧光探针的实际应用性。结果: 在 365 nm 紫外灯下, CPIM 可以实现酪胺分子的可视化检测。CPIM 对酪胺识别具有良好的选择性、灵敏性、抗干扰性、稳定性和重现性, 在 $0\sim 5.0\times 10^{-6}$ mol/L 浓度范围内, 体系荧光强度与酪胺浓度呈良好的线性关系, 其检测限为 4.36×10^{-7} mol/L, 与酪胺的结合常数为 9.98×10^4 M⁻¹。CPIM 与酪胺以 1:1 结合脱水后形成复合物, 进而抑制 ESIPT 过程, 并生成大的 p- π 共轭体系导致荧光显著增强。此外, CPIM 还可对实际样品中的酪胺进行检测。结论: CPIM 具有良好的酪胺检测能力, 具有选择性高、灵敏性好、检测限低、稳定性好的特点。

关键词 酪胺; 咔唑; 荧光探针; ESIPT 机制; 希夫碱

中图分类号 R9

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)05-0462-06

Synthesis and application of a carbazole-based fluorescent probe for recognizing tyramine

LIU Yuan^{1,2}, DONG Linyi¹

(1. Department of pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Novozymes (China) Biotechnology Company Limited, Tianjin 300457, China)

Abstract **Objective:** To develop a turn-on small molecule fluorescent probe CPIM for tyramine detection based on the excited state intramolecular transfer(ESIPT) mechanism. **Methods:** The carbazole small molecule fluorescent probe CPIM was obtained by the reaction and condensation of 4-(9H-carbazol-9-yl)aniline and 3,5-diiodosalicylaldehyde, and the structure of CPIM was characterized by ¹H nuclear magnetic resonance spectrometry (¹H NMR), infrared spectroscopy (IR), and high resolution mass spectrometry (HR-MS). The performance of CPIM in detecting tyramine was studied by UV spectrum, fluorescence spectroscopy and other methods. The detection mechanism was investigated by Job's plot, IR, and ¹H NMR. The practical applicability of fluorescent probe was verified by the standard addition method. **Results:** The visual detection of CPIM for tyramine can be realized under 365 nm UV chamber. CPIM has good selectivity, sensitivity, anti-interference, stability and repeatability for the recognition of tyramine. There was a good linear relationship between the fluorescence intensity of probe CPIM and the concentration of tyramine in a range of 0 to 5.0×10^{-6} mol/L, with the detection limit of 4.36×10^{-7} mol/L. The binding constant of tyramine with CPIM was 9.98×10^4 M⁻¹. CPIM binds to tyramine in a 1:1 ratio and dehydrates to form a complex, which in turn inhibits the ESIPT process and generates a large p- π conjugation system leading to a significant enhancement of fluorescence. Besides, CPIM can be used for the detection of real samples. **Conclusion:** CPIM has good tyramine detection ability with high selectivity, good sensitivity, low detection limit and good stability.

Key words tyramine; carbazole; fluorescent probe; ESIPT mechanism; schiff base

酪胺是以酪氨酸为前体物质, 脱羧后形成的一种生物胺, 酪胺广泛存在于发酵食品、乳制品、葡萄酒和啤酒中。人体从食物中摄入少量酪胺后, 会释放单胺氧化酶, 将酪胺氧化分解后活性丧失, 由泌尿系统排出体外。但当人体从食物中摄入过量的酪胺, 或服用了抑制单胺氧化酶活性的药物, 从而导致其在体内大量堆积, 对人体健康产生较大的影

响, 可能会出现头痛、呕吐等症状, 还有可能引发心力衰竭、高血压、哮喘和荨麻疹等多种疾病, 甚至会导致脑出血或死亡^[1-2]。因此, 检测人体内酪胺的含量引起了人们高度重视。

传统的酪胺检测方法主要包括交换色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、毛细管电泳法和薄层色谱法等, 这些方法有检测限低、灵敏度高的优点, 但仪器的价格相对昂贵、前处理繁琐, 需要专业技术人员操作且操作复杂^[3], 因此难以实时应用。荧光探针法具有特异性强、灵敏度高、操作简便、可视性

基金项目 天津市教委科研重点项目(2022ZD053)

作者简介 刘圆(1989-), 女, 工程师, 硕士在读, 研究方向: 药物分析; 通信作者: 董林毅, E-mail: donglinyi@tmu.edu.cn。

强、响应时间短和成本低等优点,近年来胺类荧光探针的研究已经取得了一定的进展。然而,现有的胺类探针往往难以具备荧光探针的所有理想特性,且大多数胺类探针只能实现对某一类生物胺或总量的检测,因此,面对生物环境中结构和化学性质相似的生物胺,研发能够特异性识别酪胺的荧光探针仍然面临较大的挑战。

咪唑是一类含有含氮芳香杂环的化合物,具有大的 π -共轭刚性平面结构,因此具有较高的荧光发射强度以及荧光效率,适宜作为荧光探针的荧光基团^[4]。希夫碱(schiff base)衍生物中含有的亚氨基($-RC=N-$)具有孤对电子,因此有良好的配位能力,且该类化合物合成简单、原料环保易得、成本低^[5],有利于降低荧光探针的成本及合成过程的复杂性,是设计酪胺荧光探针的优选骨架结构。

本研究拟设计合成基于咪唑的希夫碱荧光探针 CPIM,以期应用于酪胺的检测。

1 材料与方法

1.1 试剂 3,5-二碘水杨醛、二甲基亚砜(DMSO)、无水乙醇(EtOH)、三氯乙酸、正己烷、氢氧化钠(安徽泽升有限公司);甲胺(methyl amine, MA)、二甲胺(dimethyl amine, DMA)、多巴胺(dopamine, DA)、酪胺(tyramine, TY)、色胺(tryptamine, TA)、组氨酸(histidine, HD)、腐胺(putrescin, PS)、组胺(histamine, HA)、色氨酸(tryptophan, TP)、三苯胺(triphenyl amine, TPA)、丙氨酸(Alanine, Ala)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器 F-7000 荧光分光光度计(日本日立公司); Nicolet380 傅里叶变化红外光谱仪(美国热电公司); JASCO V-770 紫外-可见分光光度计(日本分光公司); Bruker AVANCE III 400 核磁共振仪(瑞士布鲁克公司); LCQ 高分辨质谱仪(美国热电公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 探针 CPIM 的合成 4-(9H-咪唑-9-基)苯胺依照文献合成^[6]。探针分子 CPIM 合成过程如图 1 所示。称取 4-(9H-咪唑-9-基)苯胺 2.58 g (10 mmol)置于三颈瓶中,用 30 mL 无水乙醇溶解。另称取 3,5-二碘水杨醛 3.74 g (10 mmol)溶于 20 mL 无水乙醇后,置于恒压滴液漏斗中。在 100℃油浴加热条件下,缓慢滴加 3,5-二碘水杨醛溶液,搅拌加热回流 8 h, TLC 检测反应。反应完毕后,抽滤收集产物,产物经乙醇重结晶后,得橘红色固体 5.36 g,产率 87.30%。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 14.62 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.27 (d, 2H, $J=7.7$), 8.19 (d, 1H, $J=1.9$), 8.06 (d, 1H, $J=1.9$), 7.85–7.75 (m, 4H),

7.45 (s, 4H), 7.37–7.28 (m, 2H)。IR (KBr), ν (Schiff-base C=N), cm^{-1} : 1 631.0。HR-MS(ESI), $\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{I}_2\text{N}_2\text{O}$, 实测值(计算值), m/z : 613.930 5 (613.935 2) $[\text{M}]^+$ 。

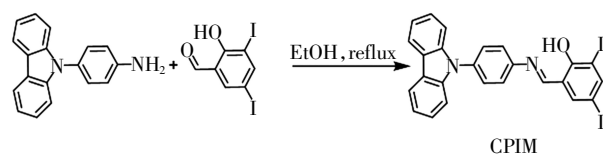


图 1 CPIM 合成路线

Fig.1 Synthetic route of CPIM

1.3.2 探针 CPIM 对酪胺的检测研究 (1) 裸眼检测及紫外光谱滴定实验: 为了考察 CPIM 对各种生物胺的识别功能, 通过使用不同类型的脂肪类、芳香类生物胺与 CPIM 在 DMSO 中按照等比例混合后, 在 365 nm 紫外灯下照射, 观察相应的荧光变化。同时, 通过紫外光谱法, 进一步考察不同浓度的酪胺对 CPIM 紫外吸收光谱的影响。取 CPIM 储备液(2×10^{-3} mol/L) 2 μL 加入至 DMSO(2 mL)中, 终浓度为 2×10^{-6} mol/L。随后向该溶液中逐渐加入酪胺储备液(2×10^{-4} mol/L), 每次 2 μL , 扫描记录紫外光谱数据。

(2) 选择性实验: 为了考察探针 CPIM 对酪胺的选择性, 向 2×10^{-6} mol/L CPIM 溶液中分别加入终浓度为 2×10^{-6} mol/L 的酪胺、甲胺、二甲胺、多巴胺、色胺、组氨酸、腐胺、组胺、色氨酸、三苯胺、丙氨酸, 待不同类型的生物胺与 CPIM 充分反应后, 300 nm 激发光源下, 扫描记录荧光光谱数据。

(3) 灵敏性实验: 通过荧光滴定实验, 研究酪胺浓度对探针 CPIM 荧光强度的影响, 取 CPIM 储备液(2×10^{-3} mol/L) 2 μL 加入至 DMSO(2 mL)中, 终浓度为 2×10^{-6} mol/L。随后向该溶液中逐渐加入酪胺储备液(2×10^{-4} mol/L), 每次 2 μL , 待 CPIM 与不同浓度的酪胺溶液充分作用后, 300 nm 激发光源下, 扫描记录荧光光谱数据。紧接着, 利用方程 $3\sigma/k$ 测定 CPIM 对酪胺的检测限, 其中 σ 代表探针分子溶液荧光强度的标准偏差, k 为荧光强度变化值对酪胺浓度线性拟合后所得的斜率值, 从 CPIM 对酪胺的荧光滴定线性拟合图中获得。探针与酪胺的结合常数由 Benesi-Hildebrand 方程求得。

(4) 抗干扰性实验: 为了考察其他干扰胺类对探针 CPIM-酪胺体系荧光强度的影响, 向体系中加入各种生物胺干扰物, 检测荧光强度的变化。配制若干 2 mL 含有 2×10^{-6} mol/L CPIM 的 DMSO 溶液, 在所有溶液中加入终浓度为 2×10^{-6} mol/L 的酪胺。充分反应后, 分别加入终浓度为 2×10^{-6} mol/L 的甲胺、二甲胺、多巴胺、色胺、组氨酸、腐胺、组胺、色氨

酸、三苯胺、丙氨酸等生物胺,待稳定后,扫描记录荧光强度变化。紧接着,改变 CPIM 与酪胺反应体系的 pH 及 CPIM-酪胺复合物的储存条件,分别记录不同 pH 条件及储存条件下荧光强度的变化,从而进一步考察 CPIM 对酪胺检测的稳定性和重现性。

(5) Job's plot 实验: 为了进一步研究探针 CPIM 对酪胺的检测机制, 采用 Job's plot 曲线分析 CPIM 与酪胺反应的计量比。保持 CPIM 与酪胺的总量恒定, 不断调节 CPIM 与酪胺的摩尔比例, 当荧光强度达到最大时, CPIM 与酪胺的摩尔比即为二者的最佳结合比。在实验中, 保持 CPIM 与酪胺的总浓度恒定(终浓度 4×10^{-6} mol/L), 调整酪胺在 CPIM-酪胺复合物中的比例, 使其在 0 到 1 范围内变化, 分别配制不同摩尔比的 CPIM 与酪胺的测试液, 待充分反应后, 分别测定其荧光强度。

1.3.3 探针 CPIM 对实际样品中酪胺含量的检测 为了验证 CPIM 荧光检测的实际应用性, 以猪肉、培根、奶酪作为样品, 检测样品中的酪胺含量, 并对样品进行加标回收实验, 验证该检测方法的准确性。

(1) 样品处理^[7]: 分别称取粉碎后样品 5.0 g, 加入 3% 三氯乙酸 20 mL, 涡旋混合 10 min 后, 将样品置于 10 000 r/min 下离心 10 min, 收取上清液体。加入 20 mL 正己烷涡旋混合 5 min 后, 收集下层液体。使用 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至中性后, 使用 PBS 稀释备用。

(2) 样品测定: 采用标准加入法测定样品中酪胺含量(20.0 和 40.0 mg/kg)。测试前将 CPIM 与样品充分涡旋混合 2 min 后, 测定荧光光谱数据。

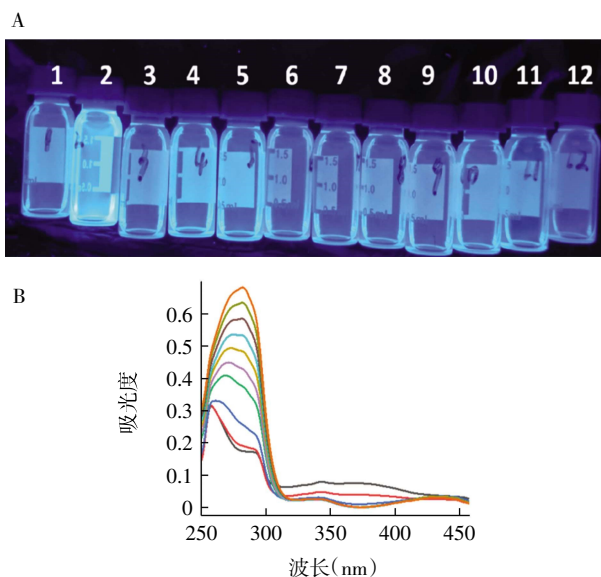
(3) 加标回收率计算: 回收率 = (加标试样测定含量 - 试样测定含量) / 加标量 $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 探针 CPIM 对酪胺的快速识别能力 由图 2A 可知, 探针 CPIM 的 DMSO 溶液中, 只有加入酪胺后, 可以观察到强烈的蓝色荧光, 而与其他胺类均未观察到明显的荧光变化。上述结果表明, 在 365 nm 紫外灯下, CPIM 可以通过“裸眼”快速识别酪胺。

2.2 探针 CPIM 对酪胺的紫外光谱滴定 由图 2B 可知, 随着酪胺的加入, CPIM 在 257 nm 处的吸收峰红移至 282 nm, 并在 310 nm 处出现一个等吸收点, 表明探针分子 CPIM 与酪胺可形成单一配合物, 且配位方式唯一。

2.3 探针 CPIM 对酪胺的选择性识别能力 由图 3A 可知, 向探针分子 CPIM 中添加不同的生物胺充分反应后, 除酪胺外, 其他生物胺均未引起荧光强度的改变; 加入酪胺后, CPIM 的荧光光谱发生明显



注: A: 探针 CPIM 与各种生物胺在 365 nm 紫外灯下荧光变化图 (1. CPIM; 2. CPIM+TY; 3. CPIM+MA; 4. CPIM+DMA; 5. CPIM+DA; 6. CPIM+TA; 7. CPIM+HD; 8. CPIM+HA; 9. CPIM+TP; 10. CPIM+TPA; 11. CPIM+PS; 12. CPIM+Ala); B: 探针分子 CPIM 在 DMSO 中酪胺紫外光谱滴定曲线

图 2 探针分子 CPIM 裸眼荧光响应及紫外光谱滴定曲线

Fig.2 Naked eye fluorescence response and UV-vis titration spectra of probe molecule CPIM

变化, 其在 450 nm 处的荧光强度显著增加, 相较于单纯 CPIM 提升了 7.9 倍, 表明 CPIM 对酪胺具有良好的选择性。

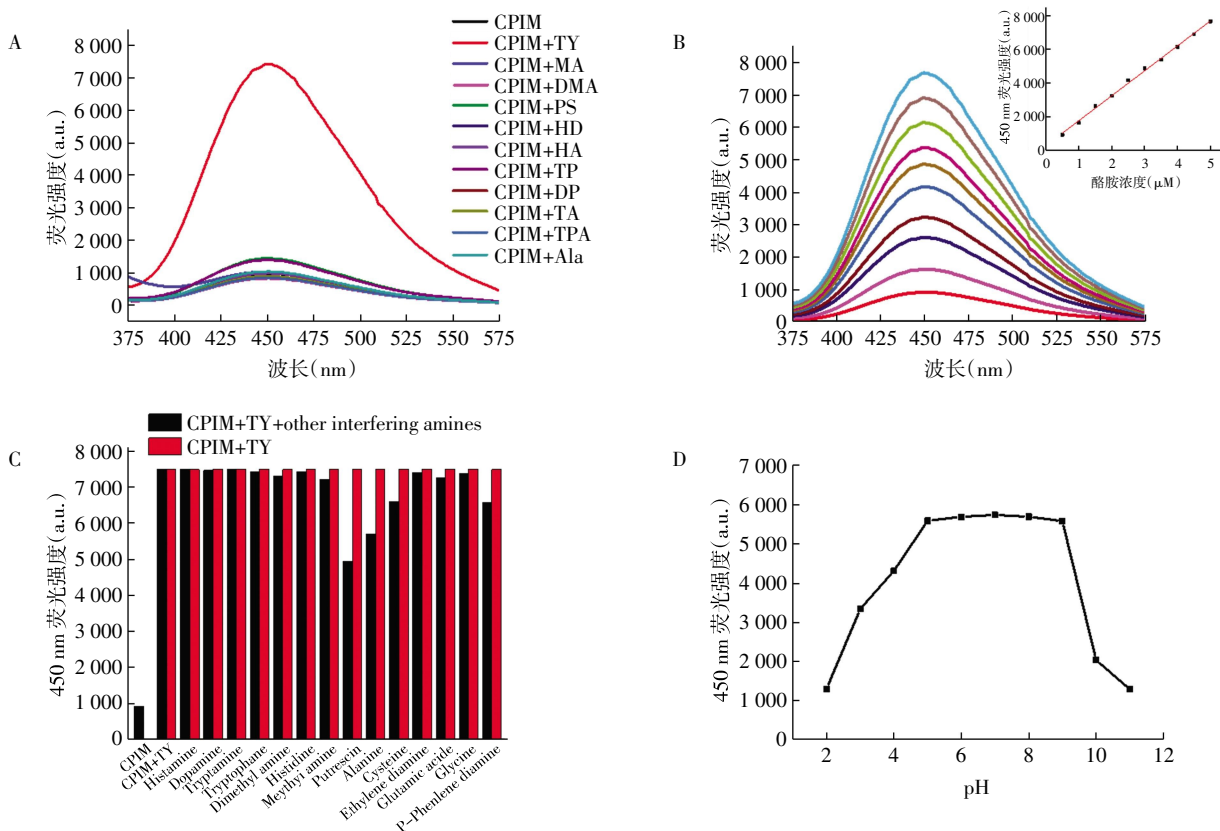
2.4 探针 CPIM 对酪胺的荧光滴定光谱 由图 3B 可知, 随着酪胺浓度的增加, CPIM 在 450 nm 最大发射峰处荧光强度逐渐增加, 酪胺浓度在 $0 \sim 5.0 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内与 450 nm 荧光强度保持了良好的线性关系。通过计算得出, CPIM 与酪胺的结合常数为 9.98×10^4 M^{-1} , 探针 CPIM 对酪胺的检测限 LOD 为 4.36×10^{-7} mol/L。表明 CPIM 对酪胺的检测表现出较高的灵敏度。

2.5 探针 CPIM 对酪胺识别的抗干扰能力 由图 3C 可知, 在 CPIM 与酪胺的反应体系中加入各种生物胺干扰物后, 除腐胺(下降 34%)和丙氨酸(下降 24%)外, 其他生物胺几乎不影响 CPIM 对酪胺的荧光响应, 表明 CPIM 对酪胺的检测具有较强的抗干扰能力。

2.6 探针 CPIM 检测酪胺的稳定性和重现性 由图 3D 可知, CPIM 对酪胺响应的荧光强度在 pH = 2~4 显著增强, 在 pH = 5~7 呈微弱上升趋势, 当 pH = 7 时荧光强度达到最大, pH = 8~10 呈现下降趋势, 而 pH = 11 时显著下降。表明在较强酸性条件下, 由于酪胺本身的质子化, 导致其与 CPIM 无法反应, 而在中性及弱碱性条件下, 有利于二者反应, 进而产

生良好的荧光响应。但是,当 $\text{pH} > 10$ 时,CPIM 对酪胺响应的荧光强度显著下降,可能由于强碱性环境下 CPIM 发生水解,导致分子中亚胺基($-\text{C}=\text{N}-$)断裂,进而降低荧光响应。此外,CPIM 与酪胺复合

物在 -20°C 条件下放置 4 周,荧光强度几乎不变;而在室温条件下避光保存 1 周,荧光强度变化在 3% ($n = 5$) 以内,表明 CPIM 检测酪胺具有很好的稳定性和重现性,可适用于复杂体系的酪胺含量检测。



注:A:探针分子 CPIM 在 DMSO 溶液中,加入不同生物胺的荧光光谱($\lambda_{\text{ex}} = 300$);B:探针分子 CPIM 在 DMSO 溶液中酪胺荧光光谱滴定图($\lambda_{\text{ex}} = 300$);C:探针分子 CPIM 对酪胺响应抗干扰性检测图;D:在不同 pH 条件下(DMSO : $\text{H}_2\text{O} = 9 : 1$),探针分子 CPIM 对酪胺响应荧光强度图($\lambda_{\text{ex}} = 300$)

图 3 探针分子 CPIM 荧光检测酪胺性能评价图

Fig.3 Fluorescence detection performance evaluation of probe molecule CPIM towards tyramine

2.7 探针 CPIM 对酪胺的检测机制 由图 4A 可知,探针分子 CPIM 与酪胺的计量比在 0.5 时,荧光强度最高,表明二者通过 1:1 的方式进行结合,形成最佳的复合物。图 4B 对比了加入等比例酪胺前后 CPIM 红外光谱的变化。从 CPIM 的红外光谱图可以明显看出, 3150 cm^{-1} 处的峰是 CPIM 酚羟基伸缩振动峰。而在加入等比例的酪胺后,仍可看到酚羟基伸缩振动峰,推测为酪胺分子中酚羟基的伸缩振动峰。与此同时,在 3415 cm^{-1} 处出现了一个强度较弱的特征峰,证实 CPIM 和酪胺结合后,脱去了一分子 H_2O 而形成新的仲胺基 $-\text{NH}$ 。此外,与酪胺结合后,CPIM 中原本 1631 cm^{-1} 处亚胺键的特征峰并没有受到干扰。 2810 cm^{-1} 处出现的特征峰代表结合物中酪胺的烷基结构。

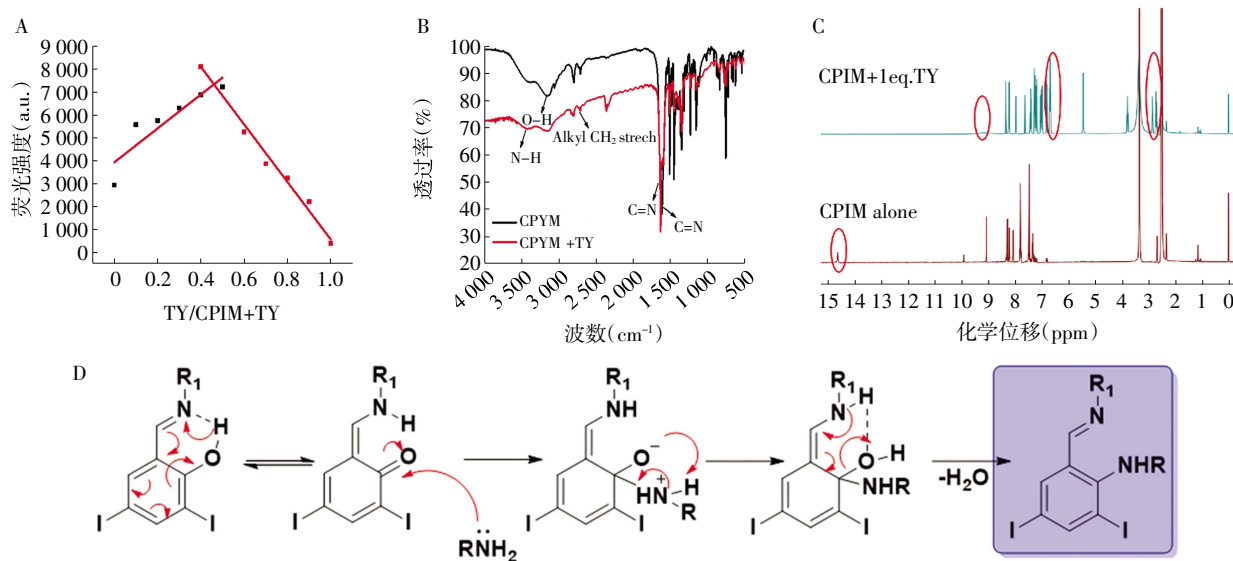
将探针 CPIM 与酪胺以 1:1 的比例进行 ^1H NMR

测试,结果如图 4C 所示。在 CPIM 核磁共振氢谱图中,位于 14.62 ppm 处的单峰属于二碘酚中的羟基质子,当酪胺以 1:1 等量方式加入到 CPIM 中时,该羟基质子的信号峰消失,在 9.15 ppm 处会出现一个新的酪胺羟基质子峰, 6.67 ppm 处会出现一个新的二级 $-\text{NH}$ 质子峰,并在 2.85 ppm 和 2.70 ppm 处出现两个酪胺亚甲基多重峰。羟基质子峰的位移以及二级 $-\text{NH}$ 质子峰的出现进一步验证了探针 CPIM 对酪胺的检测机制可能如图 4D 所示,即 CPIM 和酪胺之间发生的脱水反应导致了 CPIM-TY 的形成。

2.8 探针 CPIM 对实际样品的分析 如表 1 所示,在未添加酪胺标准品的猪肉、培根、奶酪样品中,采用 CPIM 荧光检测法检出酪胺的含量分别为 2.88、1.32 和 22.36 mg/kg 。当加标水平为 20.0 mg/kg 时,

上述 3 种样品的检测结果为 21.93、20.71 和 41.68 mg/kg, 回收率在 95.25%~96.95%, 检测结果的 CV

小于 10%, 符合国际推荐 90%~110% 的要求, 表明该方法可应用于实际样品的酪胺含量检测。



注:A:探针分子 CPIM 与酪胺的荧光 Job's plot 曲线($\lambda_{\text{ex}} = 300$);B:探针分子 CPIM 及 CPIM-酪胺复合物的红外光谱图;C:探针分子 CPIM 及 CPIM-酪胺复合物的 ¹H NMR 谱图;D:探针分子 CPIM 荧光检测酪胺可能的分子机制

图 4 探针分子 CPIM 荧光检测酪胺发光机制

Fig.4 Fluorescence detection mechanism of probe molecule CPIM towards tyramine

表 1 CPIM 检测实际样品中酪胺含量($n=3$)

Tab.1 Tyramine content in real samples detected by CPIM ($n=3$)

样品	添加水平(mg/kg)	酪胺含量(mg/kg)	回收率(%)
猪肉	0.00	2.88 ± 0.11	—
	20.0	21.93 ± 0.54	95.25
	40.0	41.34 ± 0.92	96.15
培根	0.00	1.32 ± 0.06	—
	20.0	20.71 ± 0.61	96.95
	40.0	40.48 ± 0.57	97.90
奶酪	0.00	22.36 ± 0.64	—
	20.0	41.68 ± 1.11	96.60
	40.0	60.73 ± 0.96	95.93

3 讨论

目前报道的生物胺小分子荧光探针主要包括:基于开环反应的荧光探针、基于迈克尔加成反应的荧光探针、基于亲核取代反应的荧光探针、基于酯键识别的荧光探针等^[8]。Wang 等^[9]基于氮杂氟硼二吡咯结构设计合成了探针分子 PPCy-1, 可用于生物胺的检测, 其发光机制归因于氮杂-迈克尔加成和硼-氮键解离的协同作用, 这种作用降低了 PP-Cy-1 的共轭结构, 导致荧光淬灭。Zhu 等^[10]设计合成了一种基于 7-二乙氨基香豆素的小分子荧光探针 CMA-Cl, 用于尸胺和腐胺的检测, CMA-Cl 可与尸胺或腐胺形成共价修饰加合物, 进而产生蓝色荧光。Deng 等^[11]设计得到了一种检测多巴胺的绿色荧

光蛋白探针分子, 该分子的内酯结构可增强荧光发射, 但是多巴胺的氨基可使内酯环打开, 进而破坏共轭结构致使荧光强度降低。

不同于上述生物胺小分子荧光探针的发光机制, 本文基于激发态分子内质子转移(ESIPT)机制^[12], 开发了一种含有咪唑骨架的新型荧光探针 CPIM。在 ESIPT 机制中, 当分子被光激发后, 其内部的质子会通过分子内氢键发生质子转移, 从而导致分子结构发生变化, 形成互变异构体, 通常是由烯醇形式(E)转化为酮形式(K)。质子转移后, 分子会通过辐射跃迁回到基态, 并伴随荧光发射^[13]。基于 ESIPT 机制的荧光传感器, 一般是通过替换氢键供体^[14]或破坏氢键^[15], 阻止 ESIPT 的过程, 导致荧光的改变, 从而实现对分析物的检测。本文合成的探针分子 CPIM 作为希夫碱类化合物, 其 C=N 双键中的 N 原子与邻近酚羟基质子间发生质子转移, 产生烯醇式-酮式的互变(即 ESIPT 机制), 在加入酪胺后, CPIM 失去了酚羟基质子, 从而使 ESIPT 过程受到抑制, 与此同时, CPIM 与酪胺分子之间发生脱水反应生成大的 p- π 共轭体系, 导致荧光信号显著增强, 从而引起荧光光谱变化。

生物环境中存在多种结构和化学性质相似的生物胺, 因此优良的探针不仅要具备操作简便、灵敏度高、响应时间短、结果可视化等优点, 还需要具备在复杂的生物环境中区分目标生物胺与其他结

构类似分子的能力。Mallick 等^[16]开发了一种超灵敏比率荧光探针 ANH, 可用于检测脂肪族伯胺。Sriramulu 等^[17]设计合成的荧光探针 PDI, 可用于选择性检测三级胺。Meng 等^[18]设计合成的香豆素类荧光探针 BZCO, 可用于检测伯胺和仲胺。Saravanakumar 等^[19]合成的荧光探针, 可用于生物伯胺的选择性识别。Sathiskumar 等^[20]设计合成了一种可以选择性识别脂肪族伯胺和部分芳香族伯胺的荧光探针。这些荧光探针虽然都具有合成简单、灵敏度高、可视化强的优点, 但只能实现对某一类生物胺的检测, 并不能满足对单一生物胺检测的需求。然而与上述胺类荧光探针不同的是, 本研究合成的荧光探针 CPIM 在 DMSO 溶液中仅对酪胺产生开关型响应, 而对其他结构类似的脂肪类、芳香类生物胺均没有荧光响应, 因此该探针具有良好的选择性。此外, 探针 CPIM 与酪胺形成的复合物在不同储存条件下, 荧光强度均没有显著变化, 因此该探针对于酪胺检测具有很好的稳定性和重现性, 适用于复杂体系的酪胺含量检测。与此同时, 该探针分子对实际样品中酪胺含量的检测结果也进一步验证了该探针的实际应用性。因此, 本研究所制备的新型探针 CPIM 是一种性能优良的小分子酪胺荧光探针, 选择性高、灵敏性好、检测限低、稳定性好, 可作为食品中酪胺的快速定量检测工具, 并有望拓展应用于血液及组织中酪胺含量的测定。

参考文献:

- [1] ANDERSEN G, MARCINEK P, SULZINGER N, et al. Food sources and biomolecular targets of tyramine[J]. *Nutr Rev*, 2019, 77(2): 107–115.
- [2] 张月, 裴慧洁, 何维, 等. 发酵食品中酪胺的形成机制及其控制研究进展[J/OL]. *食品科学*, 2024, 1–14.
- [3] ANGULO F M, FLORES M, ARANDA M, et al. Fast and selective method for biogenic amines determination in wines and beers by ultra high-performance liquid chromatography[J]. *Food Chem*, 2020, 309: 125689–125695.
- [4] YIN J, MA Y, LI G, et al. A versatile small-molecule fluorescence scaffold: carbazole derivatives for bioimaging[J]. *Coord Chem Rev*, 2020, 412: 213257.
- [5] 王一斐. 席夫碱的应用进展概述[J]. *化工管理*, 2021, 6: 47–48.
- [6] ERDENER D, KAYA İ. Synthesis and characterization of a carbazole-based Schiff base capable of detection of Al³⁺ in organic/aqueous media[J]. *J Fluoresc*, 2022, 32(6): 2097–2106.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.208–2016 食品中生物胺含量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [8] 张弓, 林华. 用于检测食品中生物胺荧光探针研究进展[J]. *福建轻纺*, 2024, 2(2): 35–38.
- [9] WANG L, XIN S, ZHANG C, et al. Development of a novel chromophore reaction-based fluorescent probe for biogenic amines detection[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(45): 9383–9394.
- [10] ZHU B, JIANG L, CHEN T, et al. A colorimetric and fluorescence lighting-up probe for the determination of biogenic primary diamine during the spoilage of fish[J]. *Dyes Pigments*, 2021, 186: 108963.
- [11] DENG H, ZHANG Z, ZHAO Y, et al. Self-restricted oxazolone GFP chromophore for construction of reaction-based fluorescent probe toward dopamine[J]. *Mater Today Chem*, 2017, 3: 73–81.
- [12] SEDWICK A C, WU L, HAN H H, et al. Excited-state intramolecular proton-transfer (ESIPT) based fluorescence sensors and imaging agents[J]. *Chem Soc Rev*, 2018, 47(23): 8842–8880.
- [13] DURAISAMY U, JEROME P, VIJAY N, et al. ESIPT: an approach and future perspective for the detection of biologically important analytes[J]. *J Lumin*, 2023: 120350.
- [14] AZARIAS C, BUDZÁK Š, LAURENT A D, et al. Tuning ESIPT fluorophores into dual emitters[J]. *Chem Sci*, 2016, 7(6): 3763–3774.
- [15] TANG Z, WEI H, ZHOU P. Effects of solvents on the excited state intramolecular proton transfer and hydrogen bond mechanisms of alizarin and its isomers[J]. *J Mol Liq*, 2020, 301: 112415.
- [16] MALLICK S, CHANDRA F, KONER AL. A ratiometric fluorescent probe for detection of biogenic primary amines with nanomolar sensitivity[J]. *Analyst*, 2016, 141(3): 827–831.
- [17] SRIRAMULU D, VALIYAVEETIL S. Perylene derivatives as a fluorescent probe for sensing of amines in solution[J]. *Dyes Pigments*, 2016, 134: 306–314.
- [18] MENG Y, YUAN C, DU C, et al. A coumarin-based portable fluorescent probe for rapid turn-on detection of amine vapors[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, 262: 120152.
- [19] SARAVANAKUMAR M, UMAMAHESH B, SELVAKUMAR R, et al. A colorimetric and ratiometric fluorescent sensor for biogenic primary amines based on dicyanovinyl substituted phenanthridine conjugated probe[J]. *Dyes Pigments*, 2020, 178: 108346.
- [20] SATHISKUMAR U, EASWARAMOORTHY S. Red-emitting ratiometric fluorescence chemodosimeter for the discriminative detection of aromatic and aliphatic amines[J]. *Chemistry Select*, 2019, 4(25): 7486–7494.

(2024-03-26 收稿)