

基于菁染料骨架的 G-四链体 DNA 识别探针的研究进展

关 丽* 毛永爆 周艳艳 冯潇雯 付义乐

(西安建筑科技大学化学与化工学院 西安 710055)

摘要 富含鸟嘌呤(G)的 DNA 序列可形成一种特殊的核酸二级结构,称为 G-四链体 DNA,其广泛地分布于真核生物基因组,与癌症的形成和发展关系密切。以 G-四链体为靶点的小分子荧光探针的开发,对于研究 G-四链体在生物体内的生物学功能及靶向抗癌药物具有重要的意义。菁染料是一种应用广泛的生物标记用荧光染料,具有修饰位点多及光谱范围可调等优点,骨架内的刚性结构部分可通过 π - π 堆积、疏水作用等非共价键作用结合到 G-四链体的末端或沟槽中,诱导菁染料产生不同的光谱信号变化进而实现对 G-四链体的选择性识别,近年来成为 G-四链体识别探针领域研究的热点。综述了以菁染料为骨架的 G-四链体 DNA 识别探针的研究进展,并简要介绍了该类探针分子的分子设计和性能,对探针与 G-四链体 DNA 的亲合性和选择性等方面进行了评述,最后展望了该类 G-四链体识别探针的研究和发展方向。

关键词 菁染料; G-四链体 DNA; 识别探针; 分子设计

Research Progress in Cyanine-Based Recognition Probes for G-Quadruplex DNA

Guan, Li* Mao, Yongbao Zhou, Yanyan Feng, Xiaowen Fu, Yile

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055)

Abstract Guanine-rich (G) DNA sequences can form a special nucleic acid secondary structure called G-quadruplex DNA, which is widely distributed in eukaryotic genomes and is closely associated with the formation and development of cancer. The development of small molecule fluorescent probes targeting G-quadruplexes is of great significance for the study of the biological functions of G-quadruplexes in organisms and for targeting anti-cancer drugs. The cyanine dyes are widely used as fluorescent dyes for biolabelling, with the advantages of multiple modification sites and adjustable spectral range. The rigid structural part of the backbone can be bound to the end of the G-quadruplex or groove through π - π stacking, hydrophobic interaction and other non-covalent bonding, inducing different spectral signal changes of cyanine dyes to achieve selective recognition of the G-quadruplex. This has become a hot topic of research in the field of G-quadruplex recognition in recent years. Herein, the research progresses in the field of G-quadruplex recognition probes based on cyanine dye are reviewed. Molecular design and properties of this kind of probes are briefly introduced, and the affinity and selectivity of probes for G-quadruplex DNA are also commented. Moreover, the future trends of cyanine-based recognition probes for G-quadruplex are briefly introduced.

Keywords cyanine dye; G-quadruplex DNA; recognition probe; molecular design

G-四链体 DNA 是一种富含鸟嘌呤(G)序列所形成的一种特殊的核酸二级结构^[1]。此结构可以通过中心离子通道中金属阳离子的存在而进一步稳定,根据其构型的不同可分为平行型、反平行型和混合(杂交)型结构^[2](图 1)。研究表明, G-四链体是调控基因的主要限制结构,不仅广泛存在于人类基因组中且与许多重要的生理过程密切相关,还可以诱导癌细胞凋亡的相关因素的

发生。端粒酶位于端粒末端,体细胞中的端粒酶控制着细胞的分裂,正常体细胞分化成熟后其端粒酶活性会消失,而大多肿瘤细胞仍保留这种活性从而导致癌细胞的持续增殖,配体的存在会导致 G-四链体在端粒上形成或稳定,端粒上 G-四链体的形成可用于阻断肿瘤中的端粒酶,使得其活性下降,从而防止不受控制的 DNA 复制,进而抑制癌细胞的持续增殖,而体细胞不表达端

* Corresponding author. E-mail: guanli0317@163.com

Received March 13, 2022; revised April 12, 2022; published online April 29, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21807086), the Natural Science Foundation of Shaanxi Provincial Department of Education (No. 19JK0476) and the Shaanxi Provincial "Great Innovation Plan" Project in 2021 (No. S202110703103).

国家自然科学基金青年项目(No.21807086)、陕西省教育厅专项科研计划(No. 19JK0476)及 2021 年陕西省“大创计划”(No. S202110703103)资助项目。

粒酶, 因此不受影响(图 2a)^[3]; c-MYC 癌基因的过表达与细胞增殖和分化抑制有关, c-MYC 的转录激活主要是由位于 P1 启动子上游-142 至-115 位的 pu27 (NHE III1)片段控制的, pu27 片段富含 27 个碱基的核酸链包含大约 6~10 个鸟嘌呤束, 采用分子内平行的 G4 链构象, 带有三个 G-四分体和三个侧环, 通过配体使得 pu27 片段 G-四链体结构的形成和稳定能够显著下调与癌细胞相关的 c-MYC 基因的转录水平(图 2b)^[4-5], 同时原癌基因 c-kit^[6]、k-ras^[7]和 bcl-2^[8]等都可以形成 G-四链体结构并作为治疗靶点引起了人们的注意. 因此, 通过稳定或诱发 DNA 的 G-四链体构型已成为抗肿瘤研究的一个重要方向^[9].

近年来, 人们对不同 G-四链体的生物学功能以及作为抗肿瘤药物靶点的应用前景给予了高度关注. 荧光是间接观测生物体内 G-四链体的实用方法, 它依赖于 G-四链体和配体的强特异性相互作用. 一个理想的 G-四链体荧光探针应该具有较强的光稳定性和化学稳定性, 在与 G-四链体结合时有较强的光学性能或可视化等优点^[10]. 以 G-四链体为靶分子的配体分子设计, 首先要考虑 G-四链体本身的结构特点以及与配体分子特异性识别的结合模式, 现已提出的结合模式大致可以分为

末端堆积模式、沟槽结合模式以及嵌插模式(图 3)^[11-12]. 由于生物体内的 G-四链体是嵌在普通单、双链核酸结构中存在的, 因此靶向 G-四链体结构的配体分子首先要特异性识别 G-四链体结构而不识别其他的核酸二级结构(如单链 DNA、双链 DNA 和单链 RNA 等). G-四链体的末端大平面是 G-四链体区别于其他核酸结构的主要结构特征, 故而配体主要以末端平面 π - π 堆积的方式实现对 G-四链体的特异性识别, 这要求配体分子要具有: (1)一个大的 π -离域共轭结构, 以便 G-四链体通过 π - π 键及疏水作用等与配体结合; (2)小分子配体内存在一个或多个正电荷, 可通过静电相互作用与 G-四链体内的负电荷相结合; (3)含亲水基团或者正电荷的侧链, 通过静电相互作用或氢键等与 G-四链体的磷酸骨架相结合^[13-14].

菁染料是由不同的杂环核通过次甲基链连接起来的一类不饱和杂环化合物(图 4), 具有作为 G-四链体配体的基本结构特征和可调控的近红外荧光发射及易修饰的发色团骨架^[15]. 例如应用广泛的一甲川菁染料噻唑橙(TO)对各类核酸结构均具有较好的亲和性, 但没有较好的选择性, 其并不能从众多的核酸构型中将 G-四链体特异性识别出来^[16]. 通过对菁染料进行结构修饰

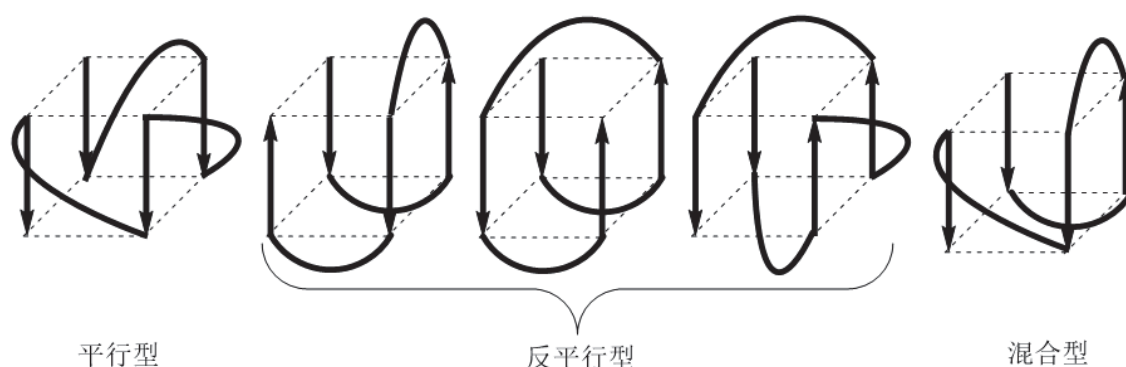


图 1 G-四链体的一些可能结构
Figure 1 Some possible structures of G-quadruplexes

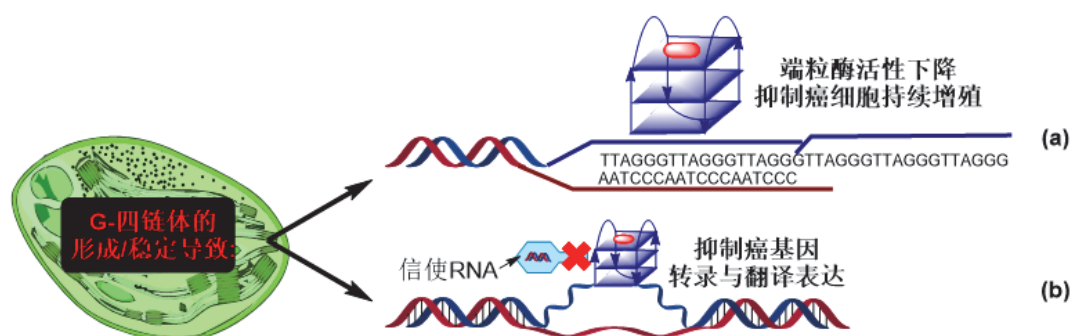


图 2 两种靶向 G-四链体的抗癌策略
Figure 2 Two anti-cancer strategies targeting the G-quadruplex

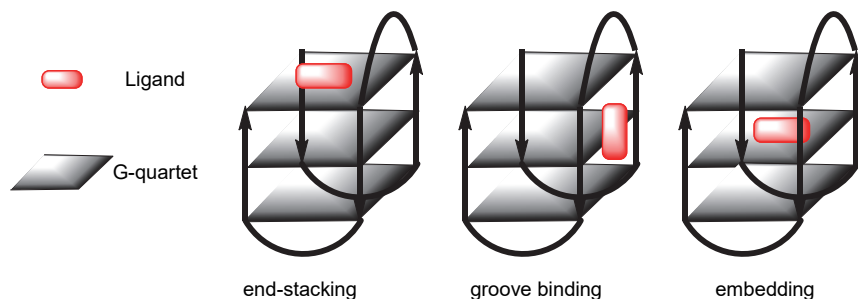


图3 配体与 G-四链体的三种可能结合模式

Figure 3 Three possible binding modes of ligands to G-quadruplexes

设计提高对 G-四链体的特异性识别以破译其生物学功能成为一个研究热点,同时也希望以 G-四链体为作用靶点,发现新型的特异性作用抗癌药物。

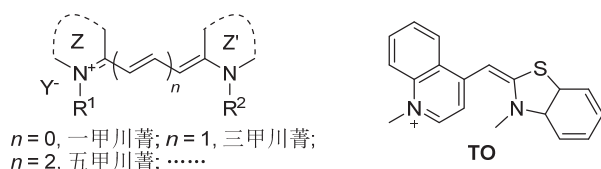


图4 经典菁染料结构示意图

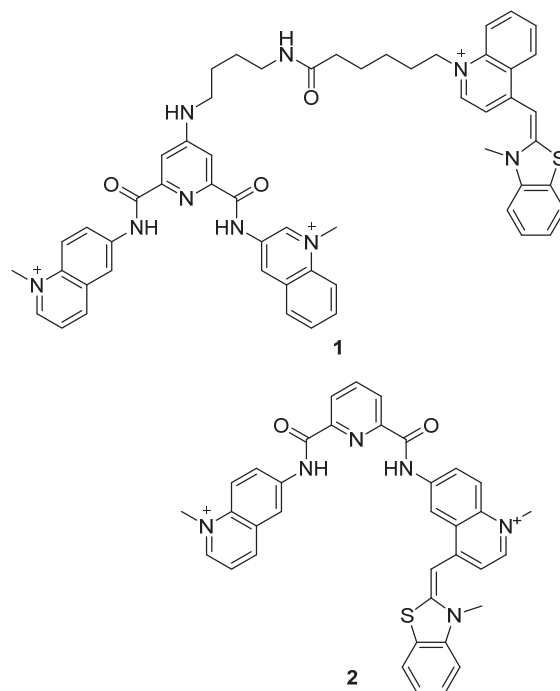
Figure 4 Schematic illustration of classic cyanine dye structures

本文综述了基于菁染料结构修饰或设计得到的 G-四链体 DNA 识别探针的研究进展,根据修饰位点的不同,大致将其分为骨架整合、杂环氮侧链修饰及次甲基链修饰三个部分,简单介绍了近年来菁染料衍生物作为 G-四链体识别探针的研究进展。

1 骨架整合

TO 是一种具有高荧光量子产率的一甲川菁普适性核酸探针,与双链 DNA 和 G-四链体 DNA 结合都显示强的荧光增强,但不能特异性识别 G-四链体 DNA^[17]。由于其优良的发光性能,基于菁染料骨架的 G-四链体 DNA 荧光探针中一部分是通过对 TO 结构修饰而开发的。为了兼顾检测灵敏度和选择性,将已知的 G-四链体配体与具有荧光“点亮”功能的探针进行结构整合是设计新型 G-四链体 DNA 选择性荧光探针的一种高效方法。2009 年,Monchaud 课题组^[18]将 TO 与对 G-四链体具有较好亲和力和选择性的吡啶二甲酰胺双喹啉(PDC)通过不同方式组装得到两种新的菁染料衍生物 PDC-L-TO (1)和 PDC-M-TO (2)。结果表明,通过一段柔性链连接两种化合物形成的 1 对双链 DNA 和 G-四链体 DNA 均有强烈的荧光增强;而通过共用 N-甲基喹啉骨架使两种化合物刚性连接形成的 2 仅对 G-四链体 DNA 有荧光增强,具有良好的选择性,2 的荧光共振能量转移

(FRET)熔点实验和 DNA 凝胶电泳实验进一步证明了探针对 G-四链体 DNA 的选择性。作者认为 PDC 对 G-四链体 DNA 的选择特性在与 TO 柔性连接后被消除,而在刚性的合并骨架 2 中得以保留。这种结构整合的方式,为设计新型 G-四链体 DNA 选择性荧光探针提供了一个新思路。



2011 年,卢宇靖等^[19]受 Monchaud 课题组启发,将 TO 作为信号开关与白叶藤碱进行结构整合,设计合成了荧光探针 CYTO (3)。探针 3 自身荧光较弱,在单、双链 DNA 存在下荧光强度变化不大,而与 G-四链体 DNA 结合时,在 G-四链体 DNA 的 5'端以尾部堆积的模式结合,分子运动受限,从而通过辐射途径有效地弛豫并产生强荧光,实现了对 G-四链体 DNA 的识别。为了提高探针 3 的水溶性和灵敏度,此课题组在 2015 年报道了一系列引入氨基侧链的 CYTO 衍生物 4a~4f^[20]。结果显示,4a~4f 与启动子 G-四链体 HRAS 的结合常数是 3 的

2~4 倍, ΔT_m 也由 3 °C 提高至 7~25 °C. 其中 **4c** 对 G-四链体 HRAS 的检测限为 0.18 nmol/L 且可定位活细胞核, 显示红色强荧光. 同时, 研究发现脂肪胺侧链与 G-四链体的结合能力明显低于环胺, 推测是由于脂肪胺的空间位阻较大, 影响了探针与 G-四链体的沟槽结合.

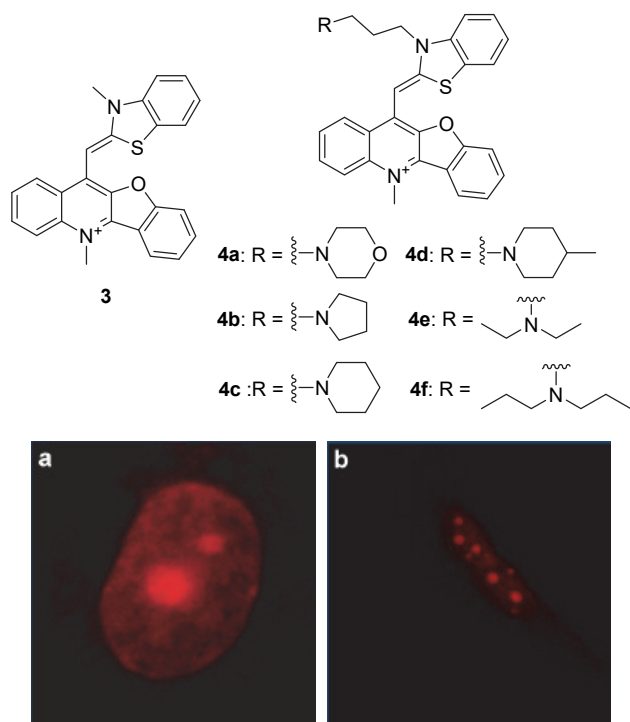


图 5 (a) **3** 的 MCF7 细胞及 (b) **4c** 的 PC3 细胞荧光成像
Figure 5 Fluorescence image of (a) **3** in MCF7 cells and (b) **4c** in PC3 cells

2017 年, 谭嘉恒课题组^[21]将 TO 引入到普适性核酸荧光探针 BMVC 支架中, 成功设计出了一种新型比色红色荧光探针 TO-CZ (**5**). **5** 对 G-四链体的选择性比 BMVC 高得多, 在 G-四链体存在下其最大吸收波长从 516 nm 红移到 613 nm, 溶液颜色变化肉眼可见, 在溶液及凝胶体系实现了对 G-四链体的可视化识别. 细胞成像结果表明 **5** 可以感应细胞中的 DNA 和 RNA G-四链体 (图 6). 作者认为探针结构共轭体系的增大和静电势值的降低导致了 **5** 与双链 DNA 之间的亲和力减弱, 从而提高了对 G-四链体的选择性.

在杂环上引入共轭基团增大菁染料的共轭结构也是提高菁染料对 G-四链体选择性的一种分子设计策略. 苯乙烯类取代基能够大大增加 TO 的共轭结构从而提高菁染料对 G-四链体的选择性. 2016 年, 卢宇靖课题组^[22]在 TO 喹啉环的 2-位陆续引入一系列苯乙烯类取代基设计合成了系列 TO 衍生物, 这些化合物对 G-四链体 DNA 显示出非常好的荧光响应, 尤其是末端带有二甲氨基的且取代基长度较短的 **6a** 对 G-四链体表现出最好的荧

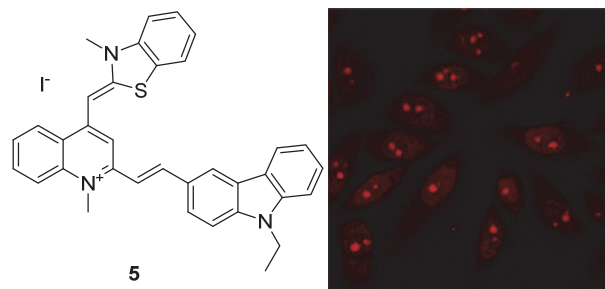


图 6 **5** 的结构及其 SiHa 细胞荧光成像
Figure 6 Structure of **5** and its fluorescence image in SiHa cells

光性能和选择性, 被成功地应用于凝胶体系和细胞水平对 G-四链体 DNA 的识别和检测.

类似的, 在 TO 喹啉环的 2-位引入共轭杂环亦能提高 TO 对 G-四链体的选择性. 2018 年, 谭嘉恒等^[23]在 TO 喹啉环的 2-位引入额外的苯并噻唑杂环得到的新的 TO 衍生物 TO-BTZ (**6b**)对杂化型端粒 G-四链体 DNA 有很好的选择性, **6b** 能从单、双链 DNA 和其他构型 G-四链体中识别出杂化端粒 G-四链体 DNA. 细胞共定位成像结果显示 **6b** 定位细胞核且主要靶点为端粒 G-四链体. **6b** 的设计合成及研究为寻找能够区分不同构型 G-四链体 DNA 的新一代探针提供了新思路. 2019 年, 卢宇靖课题组^[24]继续在苯乙烯基上引入不同取代基, 系统地比较了取代基的电子效应和空间结构对荧光信号和对核酸的结合倾向的影响. **6c**(末端 OH)和 **6d**(末端 F)在增强对 G-四链体 DNA 的特异性识别强度方面拥有最佳的荧光信号能力, 染料 **6e** 的荧光信号增强最弱, 可能是由于其延伸的侧基引起了不利的空间效应. 细胞毒性研究显示该衍生物对肿瘤细胞的细胞毒性通常比正常细胞高, 有发展为抗癌药物的潜在可能性.

余孝其课题组^[25-26]分别于 2019 年和 2020 年报道了两例新的 TO 衍生物 NCT (**6f**)和 TPE-mTO (**6g**). 相对于单、双链 DNA, 这两例探针都表现出对 G-四链体 DNA 较好的选择性和强的诱导荧光增强, 同时不会影响 G-四链体构型, **6g** 对 G-四链体的检测限低至 4.1 nmol/L. 两者都具有选择性成像 G-四链体的能力并成功靶向线粒体 G-四链体, **6f** 可达近红外成像.

2020 年, 上官棣华等^[27]在此位点苯乙烯基修饰基础上增加含氮取代基和杂环, 其中 **6h** 对 G-四链体显示出良好的选择性和红色荧光增强, 同时不会影响 G-四链体构型; **6i** 对 G-四链体的选择性较差但其可以诱导反平行 G-四链体的构象变化. 细胞成像结果显示 **6h** 定位活细胞线粒体, **6i** 主要定位活细胞的细胞核和核仁与 DNA 和 RNA 相互作用.

2021 年, 张立兵等^[28]将久洛尼定引入到 TO 喹啉环的 2-位, 成功得到了一种新的反平行 G-四链体荧光探

针 TOVJ (**6j**). **6j** 在缓冲溶液中自有荧光微弱, **6j** 通过末端堆积的方式与反平行型 G-四链体 DNA 结合, 诱导荧光增强 2742 倍, 发射波长在近红外 694 nm 处, Stocks 位移红移 198 nm. 结果表明探针对 G-四链体 DNA, 尤其是反平行型 G-四链体 DNA 有选择性, 同时细胞成像显示 **6j** 可以进入活细胞定位线粒体(图 7).

2012 年, 黄志舒和谭嘉恒课题组^[29]在 TO 结构上引入 isaindigotone 骨架设计合成了三种可视化的 G-四链体 DNA 识别探针, 筛选发现探针 **7** 在缓冲溶液中以 H-聚集体的形式存在, 溶液颜色呈红色, 最大吸收波长在 535 nm; 随着 G-四链体 DNA 不断加入, **7** 与 G-四链体 DNA 的相互作用导致染料 H-聚集降低, 溶液颜色逐渐变为蓝色, 最大吸收波长红移到 600 nm. 而其他构型 DNA 几乎不能影响 **7** 的聚集状态. 探针 **7** 与 G-四链体

DNA 的相互作用会引起染料溶液颜色的变化, 检测方法快捷简单, 是一种优良实用的可视化探针. 在此基础上, 谭嘉恒等^[30]于 2016 年进一步探讨了 TO 喹啉环上并入不同饱和碳环的衍生物性能. 该系列 TO 衍生物的自有荧光很弱, 相对于 ssDNA 和 dsDNA, 探针对 G-四链体 DNA 选择性较好, 其中并入五元环的 **8** 在平行 G-四

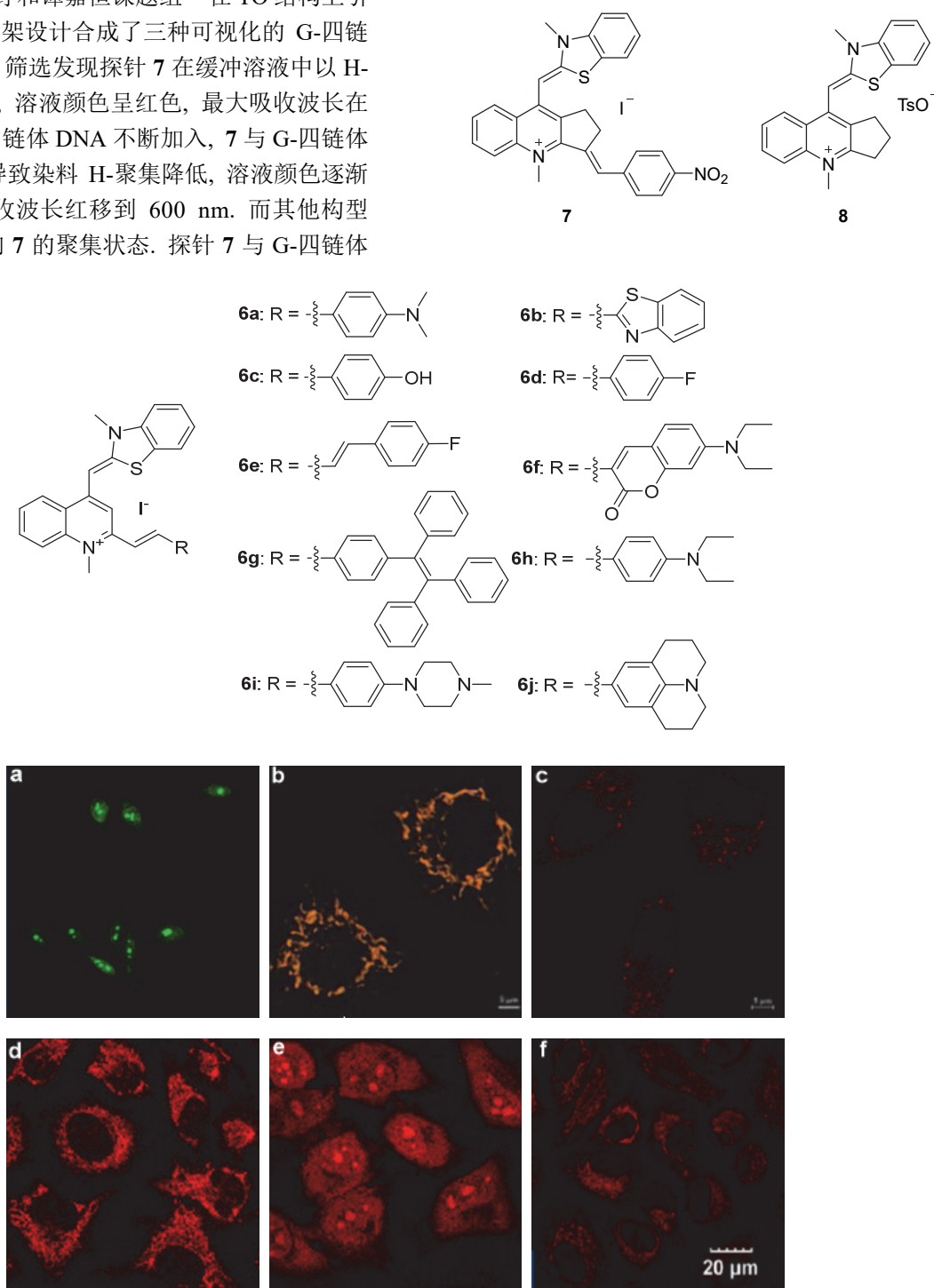


图 7 (a) **6a** 的 PC3 细胞以及(b) **6f**、(c) **6g**、(d) **6h**、(e) **6i** 和(f) **6j** 的 HeLa 细胞荧光成像
Figure 7 Fluorescence images of (a) **6a** in PC3 cells and (b) **6f**, (c) **6g**, (d) **6h**, (e) **6i** and (f) **6j** in HeLa cells

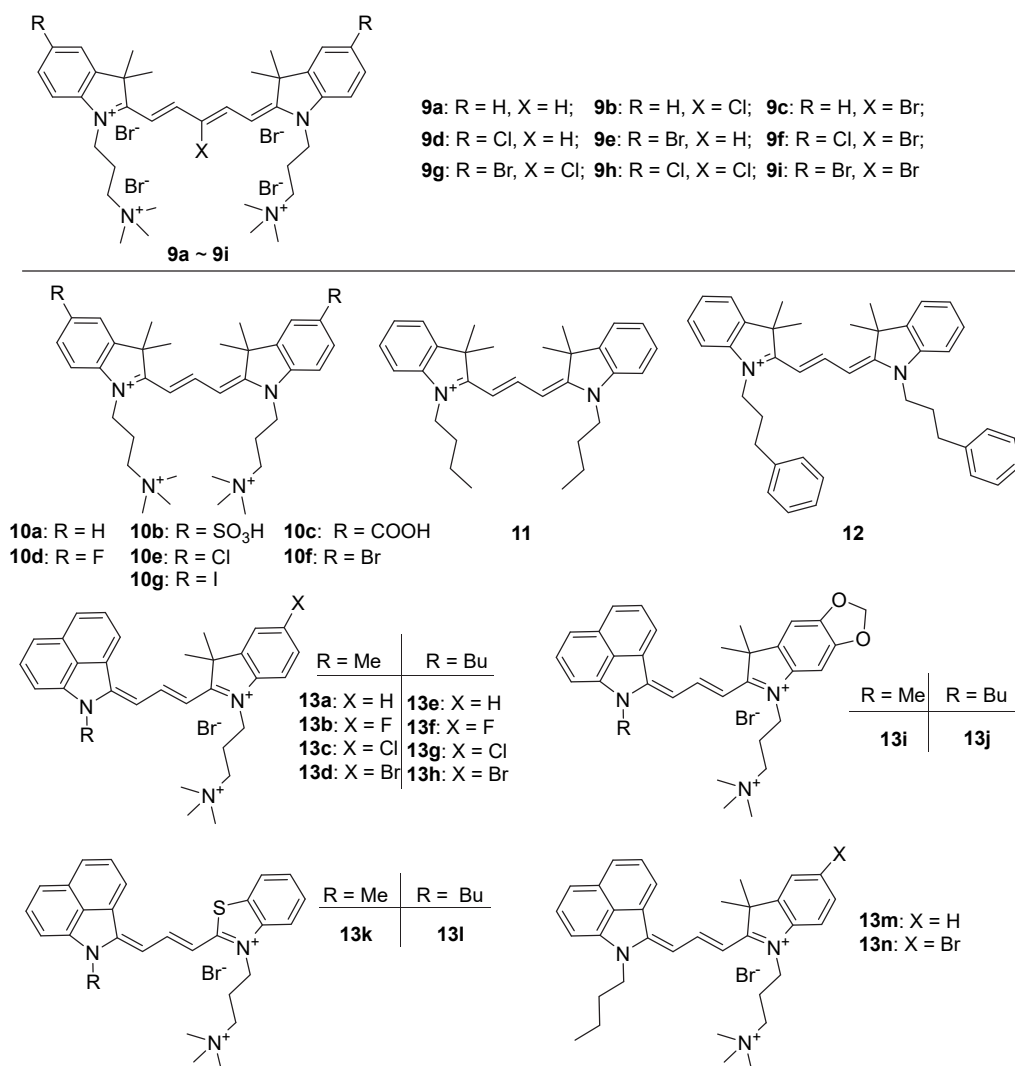
链体 DNA 中荧光增强倍数最高, 是一例良好 G-四链体荧光候选探针. 作者认为饱和碳环的并入降低了 TO 衍生物的平面性, 使得探针很难插入双链 DNA, 提高了对 G-四链体的选择性.

基于骨架整合的新型菁染料 G-四链体 DNA 探针的设计多是通过将菁染料类普适性核酸染料(代表物: TO)与对 G-四链体 DNA 具有选择性的配体或其他光学性能优越的共轭发色团进行结构整合. 菁染料骨架主要承担发色以及共轭骨架功能, G-四链体 DNA 配体的引入能够提高对 G-四链体的亲和性同时可以扩大菁染料骨架的共轭平面. 同样, 类似的共轭发色团的引入也是通过扩大菁染料骨架的共轭平面来减弱与双链 DNA 可能的沟槽结合, 增加对 G-四链体 DNA 的亲性和, 实现对以末端堆积结合模式为主的 G-四链体 DNA 的选择性检测.

2 杂环氮原子的修饰

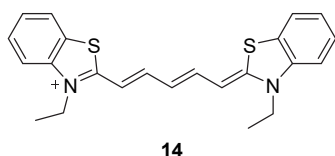
在早期通过对菁染料骨架整合成功获得高特异性 G-四链体荧光探针后, 人们将修饰位点聚焦于杂环上的

氮原子, 并通过对杂环氮原子添加侧链的修饰方法成功获得了系列新型 G-四链体探针. 2012 年, Wilson 课题组^[31]设计了一系列带有三甲基胺侧链的探针 **9a~9i**, 作者认为这些探针主要通过三甲基胺侧链在 G-四链体末端的一端或两端的沟槽中相互作用. 不同卤素取代度的二甲基吡咯五甲川菁染料对 G-四链体尤其是平行 G-四链体 c-myc 表现出较强的亲和性, 随着卤素取代度的增加, 探针与 G-四链体结合的稳定性相对增加. 随后, 该课题组^[32]于 2013 年发现三甲川菁骨架探针 **10a~10g**, **11** 和 **12** 对 G-四链体的结合优于五甲川菁骨架探针, 且不同卤素取代对热稳定性的影响很小. 2019 年, 该课题组^[33]报道了保留三甲基胺侧链的第二代不对称三甲川菁探针 **13a~13n**, **13** 对 G-四链体有一个以上的相互作用位点, 显示出较高的结合能力和选择性, 而且与平行 G-四链体 myc19 具有更强的结合能力和稳定性. 作者还认为延长杂环 N 上的烷基链, 在降低与双链 DNA 结合的同时有利于与 G-四链体的相互作用. Wilson 课题组对含三甲基胺侧链的系列三、五甲川菁探针的对比研究极

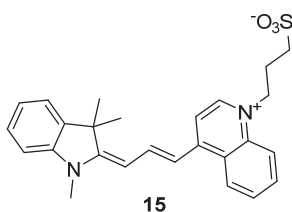


大地促进了用于靶向 G-四链体结构的花菁骨架的设计和开发。

2015 年, Weisz 课题组^[34]通过系列光谱测试研究了一种杂环氮乙基修饰的对称性五甲川菁 DiSC₂(5) (**14**)作为 G-四链体探针的可能. 该探针不仅可以区分 G-四链体 DNA 和其他 DNA 二级结构, 同时还能将平行型 G-四链体从其他 G-四链体拓扑结构中区分出来. 此外, 在紫外灯($I=254\text{ nm}$)照射下, **14** 可以实现对平行型 G-四链体的可视化检测。



2016 年, 裴仁军等^[35]报道了一例不对称三甲川菁染料 Dir (**15**). 在与各种 G-四链体结合后, **15** 表现出减色效应和明显的红移, 显示 18 到 36 倍的荧光增强, 并且可以通过紫外光照射($I=302\text{ nm}$)实现可视化识别. 此外, 引入二甲基吡啶杂环和丙磺酸取代基后的探针 **15** 对平行型 G-四链体 DNA 表现出高特异性结合. 作者认为二甲基吡啶具有明显的空间位阻效应, 从而抑制了探针与 DNA 或 RNA 碱基对的 $\pi\text{-}\pi$ 堆积, 丙磺酸取代基进一步抑制了 **15** 与 DNA 负磷酸主链的非特异性静电相互作用, 二者的存在是提高与 G-四链体结合选择性的主要原因, 但因此也可能降低其对核酸序列的亲合性. 通过结构修饰牺牲一定的亲和性来提高对 G-四链体的选择性, 这种设计思路对新型 G-四链体 DNA 探针的构建具有一定的借鉴意义。



2018 年, 卢宇靖课题组^[36]通过在苯并噻唑的氮原子上引入各种胺基侧链得到了一系列 TO 衍生物 **16a**~**16d**. 与 TO 相比, 引入胺基侧链的改性探针背景荧光微弱, 仅与 G-四链体结合时显示荧光增强, 诱导荧光强度约为 TO 的 10~15 倍; 同时由于胺基侧链与核酸中的碱基对存在额外的氢键和静电相互作用, 改性探针表现出对双链 DNA 和 G-四链体更高的结合亲和力. 在提高探针的特异性和选择性方面, 该工作发现针对 TO 中苯并噻唑部分的修饰效果高于噻啉支架的修饰, 为小分子荧光探针的设计提供了重要信息. 在此基础上于 2021 年

报道^[37]的双位点修饰的 TO 衍生物 **17** 表现出对端粒 G-四链体 DNA (htg24 和 htg22) 的高度特异性. **17** 对癌细胞的毒性显著大于正常细胞, 可能由于 **17** 与 c-myc 启动子结合, 使得 **17** 能够下调 hTERC 和 hTERT mRNA 的表达, 同时能对端粒酶活性产生抑制作用, 展示了其作为抗癌药物的潜力. 这些发现为针对端粒 G-四链体结构的强效和特异性抗癌药物的分子设计提供了依据。

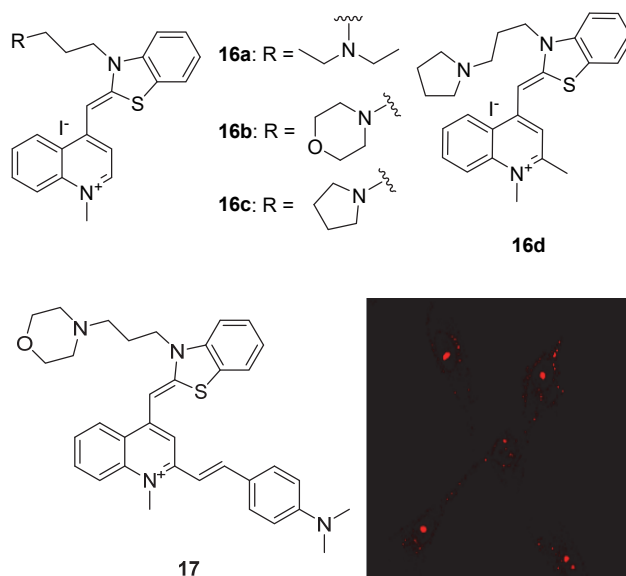


图 8 **17** 的结构及其 U87 细胞荧光成像

Figure 8 Structure of **17** and its fluorescence image in U87 cells

2019 年, 唐亚林课题组^[38]设计了三种杂环氮原子上含丙磺酸取代基的对称一甲川菁染料, 其中 DMOTY (**18**) 在识别 G-四链体方面表现出较好的光学性能, 并被用于细胞自噬成像研究. **18** 对 pH、极性和粘度均不敏感, 只有与 G-四链体 DNA 相互作用时荧光强度显著增强 100 倍以上. 通过与 G-四链体末端堆积配体 (BRACO-19 和 RHPS4) 竞争实验结果分析, 推断 **18** 于 G-四链体末端与 G-四链体结合. 作者认为这种末端堆积相互作用使 **18** 被固定在 G-四链体平面上, 限制了其分子扭转运动, 导致荧光增强. 溶酶体处于正常生理状态下不包含 G-四链体 DNA, 当自噬发生时, 在衰老和受损的线粒体中会出现 G-四链体 DNA 并被自噬体包装, 然后运到溶酶体降解. 因此, **18** 可以通过精确定位活细胞中溶酶体来研究细胞自噬。

2019 年, Wang 课题组^[39]为进一步了解阳离子侧链对配体与 G-四链体的结合亲和力和选择性的影响, 设计合成了一系列噻啉环氮原子含不同胺基侧链的 TO 衍生物. 筛选发现, **19** 和 **20** 对端粒酶的抑制作用显著且表现出稳定 G-四链体的效果, **19** 在亚微摩尔范围内对端粒酶的抑制作用与商业化 G-四链体配体 Braco-19 的抑制

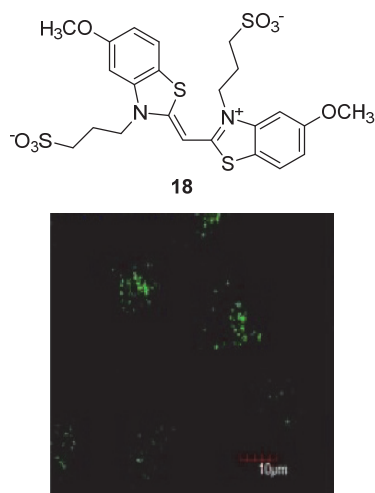
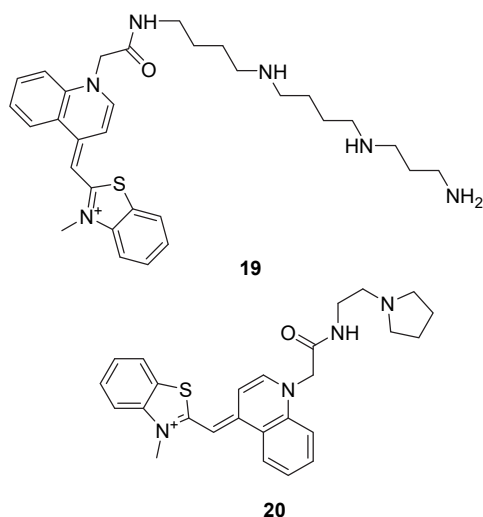


图9 18的结构及其 HeLa 细胞的荧光成像

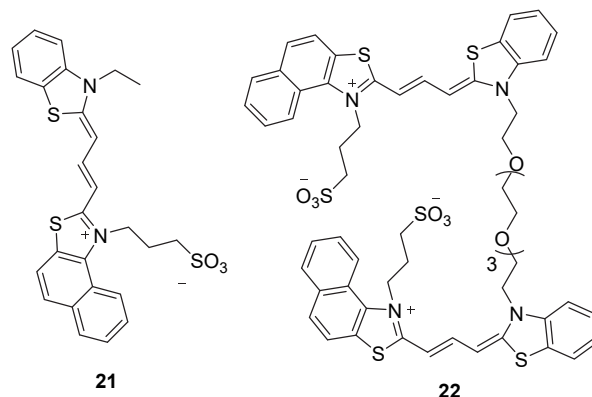
Figure 9 Structure of **18** and its fluorescence image in HeLa cells

作用相当. 同时发现柔性胺基侧链的引入增加了探针与 G-四链体的亲和力, 但对其与 G-四链体和双链 DNA 相互作用的选择性影响较小. 作者认为胺基是设计更有效的端粒酶抑制剂的有用基序, 且抑制作用取决于脂肪胺侧链的长度. 该课题组提出可以尝试使用含有多种电荷的结构性侧链, 为新型 G-四链体荧光探针和端粒酶抑制剂的设计合成提供了指导.

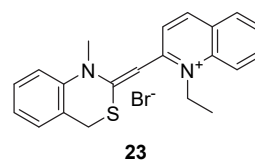


同年, 唐亚林等^[40]发现了一种新型的杂环氮修饰菁染料单体 TC (**21**)及其二聚物 TC-P4 (**22**), 探究了其作为 G-四链体荧光探针的性能. 研究表明, **22** 在含磷酸盐(PBS K^+)缓冲溶液中主要形成 H-聚集体, 可以通过 G-四链体 c-myc 从 H-聚集体转变为二聚体和单体, 从而导致一定程度的荧光增强, ds-DNA 和 ss-DNA 模板不能诱导 **22** 单体的出现, 荧光增强相对较弱; 而 **21** 在 PBS(K^+)中形成混合聚集体, 各种 DNA 都可以不同程

度地诱导其单体的出现并产生一定程度的荧光增强, 这也表明 **22** 对 G-四链体 DNA 的选择性大于 **21**. **21** 和 **22** 均可以在溶液中可视化识别分子内平行 G-四链体 c-myc, 以末端堆积模式与 G-四链体结合的 **21** 显示出比 **22** 更好的颜色识别能力. 通过探针聚集性质质的转变实现对特定 DNA 模板的可视化识别, 这种方法为 G-四链体荧光探针的发现提供了更多的空间.



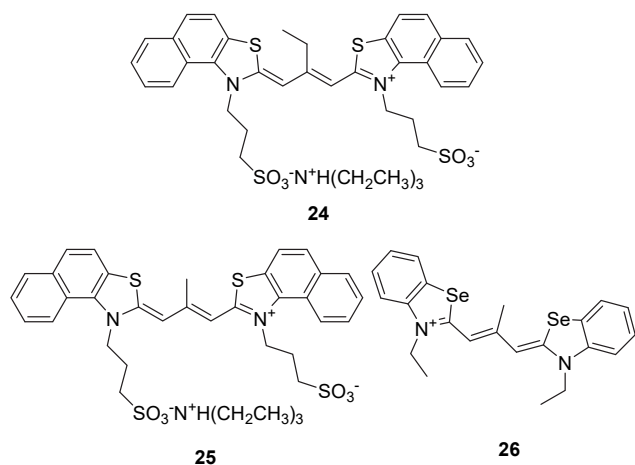
通过对菁染料杂环的简单组装和氮原子的简单修饰也可以得到优异的 G-四链体探针. 2021 年, 孙红霞课题组^[41]对 TO 骨架进行扩张, 设计合成了新的一甲川菁染料 **23**. **23** 在水溶液中背景荧光极弱, 对平行 G-四链体 c-myc 具有良好的选择性, 结合后荧光增强 1000 倍, 检测限可达 1 nmol/L, 是一例具有极其优异光学性质的平行 G-四链体 c-myc 荧光探针, 同时实验证明其可能是以末端堆积的方式与 G-四链体结合. 通过这种简单且极其有效的结构设计方式发现高特异性 G-四链体荧光探针是本发明一大亮点.



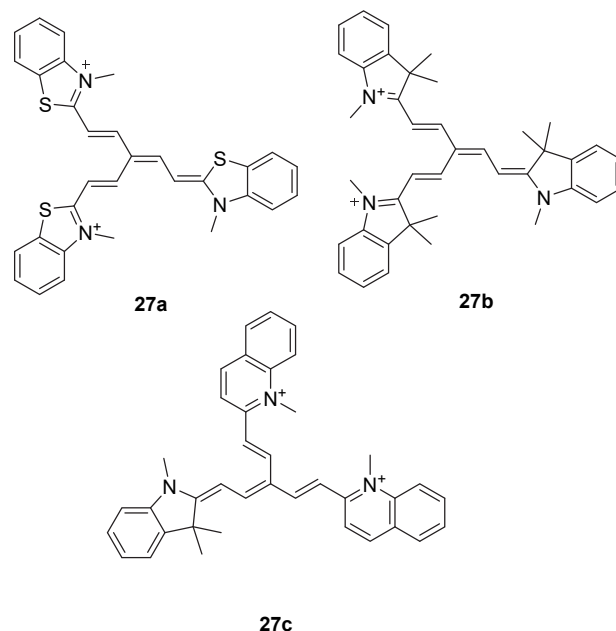
菁染料发色团两端的杂环 N 易于通过简单的亲核取代反应引入各类烷基侧链. 对于引入探针侧链带来的位阻能够在一定程度上抑制其与双链 DNA 的插层结合, 但也会牺牲一定的与 G-四链体 DNA 的亲合性, 故而对杂环 N 的侧链修饰时把握烷基链长是关键, 一般以 1~3 个碳长为益. 此外, 侧链修饰的另一个关键在于侧链末端的基团, 在配体以末端堆积为主要结合模式与 G-四链体结合时, 胺基侧链等阳离子侧链能够通过与核酸的磷酸骨架静电相互作用增加与 G-四链体 DNA 的亲合性, 反之磺酸基侧链等阴离子侧链则会抑制配体与双链 DNA 以沟槽结合为主的结合, 从而提高了对 G-四链体 DNA 的选择性.

3 次甲基链修饰

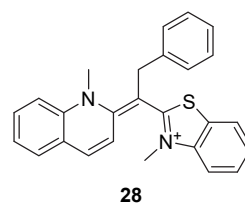
次甲基链修饰也是菁染料较早被应用于 G-四链体探针的结构修饰方法. 唐亚林课题组^[42]在 2009 年到 2021 年间先后采用中位取代三甲川菁的超分子聚集体构建了 G-四链体荧光探针 **24**~**26**. 中位乙基取代三甲川菁染料 ETC (**24**) 在低离子强度下易形成 J-聚集体, 在添加混合/平行型 G-四链体后, **24** 单体的吸收峰和荧光增强变化显著, 实现了在溶液体系和凝胶体系中识别并标记特殊结构的 G-四链体 DNA. 遗憾的是, 当将其应用于真实生理条件, 即高离子浓度下, **24** 的 J-聚集体的分子间力较强, 没有发生从 J-聚集体到单体的转化. 为降低 **24** 的组装能力, 此课题组于 2010 年设计合成了中位甲基取代的 MTC (**25**). 结果显示, **25** 在生理条件下与混合/平行 G-四链体相互作用后可以由 H-聚集体分解为单体, 并成功将其应用于识别 Au 薄膜上的混合/平行 G-四链体. 在 2021 年进一步的研究中发现 **25** 的手性 H-聚集体可以特异性识别平行 G-四链体构型, 识别过程包括放大的手性诱导、手性 H-聚集体的拆解和 **25** 单体的结合. 在平行 G-四链体存在下, **25** 手性 H-聚集体被解离为单体, 吸收光谱红移超过 100 nm, 荧光强度可增强 2000 倍以上, 展示了特异性识别平行 G-四链体的能力, 这是首次将手性引入 G-四链体超分子识别探针. 此课题组于 2012 年在 **24** 的基础上设计合成了一种新型探针骨架 DMSB (**26**). **26** 单体及其 J-聚体能够特异性识别带有平行链的椅式反平行型 G-四链体. **26** 在溶液中以单体形式存在, 在椅式反平行 G-四链体存在下以 J-聚体的形式结合到 G-四链体的末端及沟槽中, 这个过程可以通过圆二色谱信号变化进行检测, 检测限可达 10 nmol/L. 结合模式研究表明 **26** 对带有平行链的 G-四链体的结合涉及末端 G-四分体和凹槽两个部分, 即双位点结合模式, 这可能也是 **26** 比 **24** 表现出更高的特异性的原因. 这些发现以及结构的阐明为进一步设计高特异性 G-四链体荧光探针提供了新的思路.



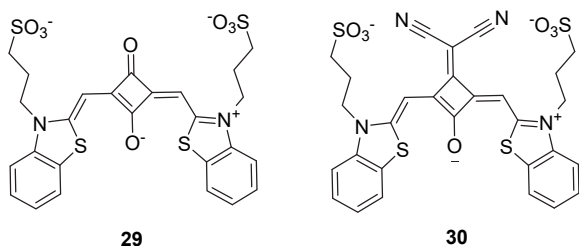
三核菁染料也可视为一类特殊的中位取代菁染料, Ihmels 课题组^[48]近年来致力于三核[2.2.2]七甲川菁染料作为 G-四链体 DNA 荧光探针的研究. 2013 年使用三核[2.2.2]七甲川菁染料 **27a** 首次成功证明了三核菁染料可选择性结合 G-四链体, 在此基础上分别于 2017 和 2018 年报道了三核菁染料 **27b** 与 **27c**. 此类探针自荧光极弱, 主要通过末端堆积的方式与 G-四链体 DNA 以中等亲和力结合. **27a** 与 G-四链体 DNA 选择性结合并显示大于 100 倍的荧光增强; 尽管 **27b** 相对于双链 DNA 并不显示对 G-四链体 DNA 的选择性结合, 但与两者结合方式的不同导致的不同光学效应使得 **27b** 可通过光谱甚至肉眼识别出 G-四链体; 与 **27a** 与 **27b** 相比, **27c** 在保留对 G-四链体 DNA 的选择性结合的同时对 G-四链体 DNA 显示出最强的荧光响应.



2020 年, 本课题组^[51]首次将次甲基链取代 TO 衍生物作为 G-四链体 DNA 探针, 设计合成了一系列中位苯基取代 TO 衍生物. 筛选发现 **28** 的背景荧光微弱, 对 G-四链体 DNA 显示出较好的选择性和强烈的荧光增强, 通过末端堆积和沟槽结合模式与 G-四链体相互作用. 作者认为甲川链取代基的引入破坏了 TO 平面性, 降低了探针与双链 DNA 以嵌插式相互作用的亲和性, 从而实现了 G-四链体 DNA 的选择性识别.



方酸菁染料是一类次甲基链具有刚性四元环的特殊菁染料. 2014 年, 上官棣华等^[52]开发了两种方酸菁染料 STS (29) 和 CSTS (30) 作为平行 G-四链体 DNA 荧光探针. 探针 30 在缓冲溶液中主要以聚集体的形式存在, 具有较弱的荧光发射, 而随着平行 G-四链体 DNA 的加入, 30 逐渐发生从 H-聚集到单体的转变, 其荧光也显示了较为明显的增强.



Würthner 课题组^[53]于 2017 年报道了一例能够对平行型 G-四链体 DNA 实现高选择性和高灵敏度识别的两亲性方酸菁染料 SQgl (31), 31 在缓冲溶液中倾向于聚集从而荧光微弱, 平行型 G-四链体 DNA 的加入导致 31 解聚并产生肉眼可见的溶液颜色变化及可达 20000 倍的红色荧光增强(加入平行 G-四链体后, $\lambda_{em}=700\text{ nm}$), 对各种平行 G-四链体 DNA 的检测限范围从 20 nmol/L (VAV-1) 到 320 nmol/L (c-myc). 结合模式研究结果显示 31 可以通过与平行型 G4 以 1:2 的结合比形成三明治式复合物, 进而能够从 ssDNA、dsDNA 及各种构型的 G-四链体中准确识别出平行型 G-四链体 DNA.

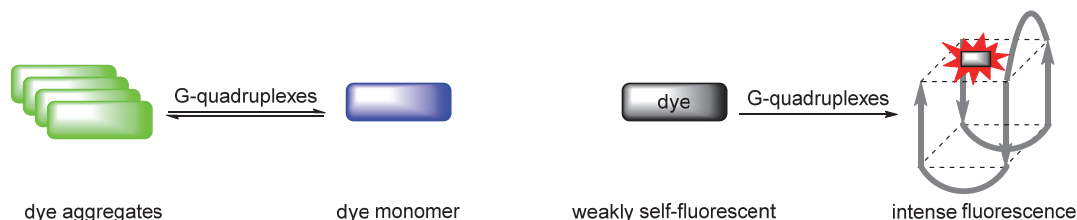
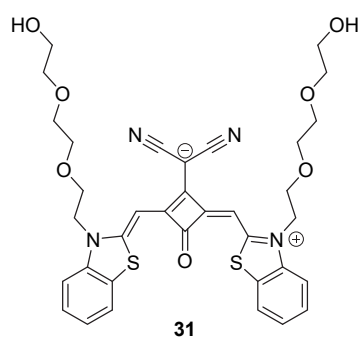


图 10 两类 G-四链体识别探针识别机理

Figure 10 Recognition mechanism of two types of G-quadruplexes recognition probe

对于次甲基链修饰菁染料作为 G-四链体 DNA 荧光探针的报道目前仍较少, 已有的次甲基链修饰多以三、五甲川菁染料为主, 探针在水溶液中倾向于聚集而产生荧光猝灭, 与 G-四链体 DNA 结合后解聚, 从而诱导产生极大的荧光增强和吸收光谱的变化(溶液颜色变化肉眼可识别). 鉴于此, 我们认为未来基于次甲基链修饰的菁染料重点在于次甲基链上共轭结构的引入, 给予新型菁染料骨架更多更好的刚性平面部分, 着重于“聚集诱导荧光猝灭——解聚诱导荧光增强”机制的 G-四链体 DNA 菁染料荧光探针的开发.

4 结论与展望

综上所述, 近年来基于菁染料骨架的荧光探针在 G-四链体 DNA 识别及检测领域取得了很大进展, 在探针的设计合成和应用方面积累了大量的经验. 目前基于菁染料骨架的 G-四链体 DNA 识别探针大致可分为基于在 G-四链体中具有不同聚集倾向的超分子组装机制导致不同溶液颜色的比色探针和基于结合 G-四链体后弱自荧光菁染料的结构刚性化导致荧光增强的荧光“off-on”型探针两类(图 10). 但是已经发现的探针还存在着一些缺点. 从检测效果来看, 有些探针灵敏度不够, 荧光增强倍数较小, 难以实现快速实时检测; 从应用方面看, 有些探针水溶性不好, 细胞毒性较大, 较难应用于活细胞及活体中的 G-四链体检测; 同时, 能够实现可视化的探针仍然很少.

菁染料类普适性核酸染料与共轭配体的骨架整合仍是新型菁染料 G-四链体 DNA 荧光探针开发的主要手段, 但其整合位点大多仍限制于菁染料两端杂环部分. 基于聚集-解聚机制, 未来针对选择性检测 G-四链体 DNA 的菁染料修饰可更多着重于次甲基链上的共轭配体以及与三苯胺^[54]等优质发色团的骨架整合. 同时通过双位点修饰对其两端的杂环 N 进行适当的侧链修饰, 进一步提升探针对 G-四链体 DNA 的亲合性和选择性以及其本身的水溶性等, 增加其在活体中对 G-四链体 DNA 检测的实用性. 在构效关系的指导下, 未来更多的

表 1 探针的一些相关参数
Table 1 Some related parameters of probes

G4 探针	$\lambda_{\max}/\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	结合/解离常数 ^b	选择性	识别方法	靶向细胞器
2	≈520/≈550	—	G4s	荧光 ^c	—
3	527/584	$0.25 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	荧光	细胞核
4c	552/585	$1.12 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	荧光	细胞核
5	516/613	—	G4s	比色 ^d , 荧光	细胞质、核(主要)
6a	473/630	$0.965 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	荧光	细胞核仁
6b	425/≈550	$6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	混合型端粒 G4s	比色, 荧光	细胞核为主
6f	/650	—	G4s	荧光	线粒体
6g	/530	—	G4s	荧光	线粒体
6h	448/≈650	$1.5 \sim 10.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	G4s	荧光	线粒体
6i	525/630	$0.69 \sim 11.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	选择性较差	荧光	细胞核
6j	561/694	$(0.319 \sim 0.929) \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	反平行端粒 G4s	荧光	线粒体
7	535/	$0.429 \sim 0.735 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	G4s	比色	—
8	515/588	$2.00 \sim 2.35 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	平行 G4s	荧光	—
14	646/680	$0.48 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	平行 MYC G4s	荧光	—
15	599/651	$(11.2 \sim 39.7) \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	荧光	—
17	499/650	$2.08 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	端粒 G4s	荧光	细胞核仁
18	440/480	—	G4s	荧光	溶酶体
22	607/602	—	分子内平行和混合 G4s	比色, 荧光	—
23	480/530	—	平行 MYC G4s	荧光	—
25	450/604	$(0.12 \sim 0.65) \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	平行 MYC G4s	比色, 荧光	—
26	553/	—	椅式反平行 G4s	CD	—
27a	577/715	$0.82 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	荧光	—
27b	630/700	$(0.18 \sim 2) \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	比色	—
27c	626/	$9.3 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	G4s	荧光	—
28	516/550	$(0.13 \sim 3.16) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	G4s	荧光	—
30	613/710	$(8.93 \sim 19.7) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	平行 G4s	比色, 荧光	—
31	620, 800/700	$k_1: (0.12 \sim 0.9) \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ $k_2: (0.036 \sim 0.27) \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	平行 G4s	比色, 荧光	—

^a 最大吸收波长 $\lambda_{\max}$ 为中性缓冲溶液中探针的最大吸收波长; 探针自荧光一般较弱, 故最大发射波长 λ_{em} 为存在 G-四链体的缓冲溶液中探针的最大发射波长。^b 仅列出对应文章中探针给出的与单一或多种 G4 的结合/解离常数。^c 通过探针在是否存在 G-四链体的条件下不同的荧光发射识别 G-四链体。^d 通过探针是否存在 G-四链体条件下吸收光谱的不同, 即溶液颜色的差别识别 G-四链体。

菁染料类 G-四链体 DNA 荧光探针的设计将在保证高效荧光响应的同时提高识别的特异性, 并进一步应用于检测活细胞内 G-四链体 DNA 的分布及生理作用, 同时有望发展为抗癌药物。鉴于当今对 G-四链体 DNA 荧光探针的强烈需求及菁染料类探针良好的细胞相容性和易修饰的多位点, 我们希望以上总结可以为今后设计性能更优越的菁染料类 G-四链体荧光探针提供一定的指导和帮助。

References

- [1] Gellert, M.; Lipsett, M. N.; Davies, D. R. *Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1962**, *V48*, 2013.
- [2] Burge, S.; Parkinson, G. N.; Hazel P.; Todd, A. K.; Neidle, S. *Nucleic Acids Res.* **2006**, *V34*, 5402.
- [3] Sun, D.; Thompson, B.; Cathers, B. E.; Salazar, M.; Kerwin, S. M.; Trent, J. O.; Jenkins, T. C.; Neidle, S.; Hurley, L. H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2113.
- [4] Gonzalez, V.; Hurley, L. H. *Annu. Rev. Pharmacol.* **2010**, *50*, 111.
- [5] Siddiqui-Jain, A.; Grand, C. L.; Bearss, D. J.; Hurley, L. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 11593.
- [6] Rankin, S.; Reszka, A. P.; Huppert, J.; Zloh, M.; Parkinson, G. N.; Todd, A. K.; Ladame, S.; Balasubramanian, S.; Neidle, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10584.
- [7] Cogoi, S.; Xodo, L. E. *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 2536.
- [8] Dai, J. X.; Dexheimer, T. S.; Chen, D.; Carver, M.; Ambrus, A.; Jones, R. A.; Yang, D. Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1096.
- [9] Balasubramanian, S.; Hurley, L. H.; Neidle, S. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, *10*, 261.
- [10] Ma, D. L.; Zhang, Z. H.; Wang, M. D.; Lu, L. H.; Zhong, H. J.; Leung, C. H. *Chem. Biol.* **2015**, *22*, 812.
- [11] Baker, E. S.; Lee, J. T.; Sessler, J. L.; Bowers, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2641.
- [12] Mulholland, K.; Siddiquei, F.; Wu, C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, *19*, 18685.
- [13] Zhang, S.-G.; Sun, H.-X.; Tang, Y.-L. *Chemistry* **2016**, *79*, 387 (in Chinese).
- [14] Duarte, A. R.; Cadoni, E.; Ressurreição, A. S.; Moreira, R.; Paulo, A. *ChemMedChem* **2018**, *13*, 869.
- [15] Tatikolov, A. S. *J. Photochem. Photobiol. C* **2012**, *13*, 55.
- [16] Dash, S.; Panigrahi, M.; Baliyarsingh, S.; Behera, P. K.; Patel, S.; Mishra, B. K. *Curr. Org. Chem.* **2011**, *15*, 2673.
- [17] Suss, O.; Motiei, L.; Margulies, D. *Molecules* **2021**, *26*, 2828.
- [18] Yang, P.; Cian, A. D.; Marie-Paule, T. F.; Mergny, J. L.; Monchaud, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 2188.
- [19] Lu, Y. J.; Yan, S. C.; Chan, F. Y.; Zou, L.; Chung, W. H.; Wong, W. L.; Qiu, B.; Sun, N.; Chan, P. H.; Huang, Z. S.; Gu, L. Q.; Wong, K. Y. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4971.
- [20] Lu, Y. J.; Wang, Z. Y.; Hu, D. P.; Deng, Q.; Huang, B. H.; Fang, Y.

- X.; Zhang, K.; Wong, W. L.; Chow, C. F. *Dyes Pigm.* **2015**, *122*, 94.
- [21] Hu, M. H.; Guo, R. J.; Chen, S. B.; Huang, Z. S.; Tan, J. H. *Dyes Pigm.* **2017**, *137*, 191.
- [22] Lu, Y. J.; Deng, Q.; Hou, J. Q.; Hu, D. P.; Wang, Z. Y.; Zhang, K.; Luyt, L. G.; Wong, W. L.; Chow, C. F. *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11*, 1019.
- [23] Wang, Y. Q.; Hu, M. H.; Guo, R. J.; Chen, S. B.; Huang, Z. S.; Tan, J. H. *Sens. Actuators, B* **2018**, *266*, 187.
- [24] Li, D. L.; Long, W.; Hou, J. Q.; Deng, Q.; Guo, Q.; Wong, W. L.; Lu, Y. J.; Zhang, K. *J. Lumin.* **2019**, *205*, 367.
- [25] Li, L. L.; Xu, H. R.; Li, K.; Yang, Q.; Pan, S. L.; Yu, X. Q. *Sens. Actuators, B* **2019**, *286*, 575.
- [26] Yu, K. K.; Li, K.; He, H. Z.; Liu, Y. H.; Bao, J. K.; Yu, X. Q. *Sens. Actuators, B* **2020**, *321*, 128479.
- [27] Zhang, L. L.; Liu, X. J.; Lu, S. S.; Liu, J.; Zhong, S. L.; Wei, Y. B.; Bing, T.; Zhang, N.; Shangguan, D. H. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3*, 2643.
- [28] Ming, J.; Li, J.; Chen, Y.; Zhao, J.; Zhang, J. H.; Zhang, Z.; Du, P. Y.; Zhang, L. B.; Lu, X. Q. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 32743.
- [29] Yan, J. W.; Ye, W. J.; Chen, S. B.; Wu, W. B.; Hou, J. Q.; Ou, T. M.; Tan, J. H.; Li, D.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 6288.
- [30] Guo, R. J.; Yan, J. W.; Chen, S. B.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S.; Tan, J. H. *Dyes Pigm.* **2016**, *126*, 76.
- [31] Nanjunda, R.; Owens, E. A.; Mickelson, L.; Alyabyev, S.; Kilpatrick, N.; Wang, S. M.; Henary, M.; Wilson, W. D. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 7002.
- [32] Nanjunda, R.; Owens, E. A.; Mickelson, L.; Dost, T. L.; Stroeve, E. M.; Huynh, H. T.; Germann, M. W.; Henary, M. M.; Wilson, W. D. *Molecules* **2013**, *18*, 13588.
- [33] Owens, E. A.; Huynh, H. T.; Stroeve, E. M.; Barman, A.; Ziabrev, K.; Paul, A.; Nguyen, S. V.; Laramie, M.; Hamelberg, D.; Germann, M.; Wilson, W. D.; Henary, M. *Bioconjugate Chem.* **2019**, *30*(10), 2647.
- [34] Karg, B.; Funke, A.; Ficht, A.; Sievers-Engler, A.; Sievers-Engler, M.; Weisz, K. *Chem.-Eur. J.* **2015**, *21*, 13802.
- [35] Chen, X.; Wang, J. N.; Jiang, G. M.; Zu, G. Y.; Liu, M.; Zhou, L.; Pei, R. J. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 70117.
- [36] Long, W.; Lu, Y. J.; Zhang, K.; Huang, X. H.; Hou, J. Q.; Cai, S. Y.; Li, Y.; Du, X.; Luyt, L. G.; Wong, W. L.; Chow, C. F. *Dyes Pigm.* **2018**, *159*, 449.
- [37] Long, W.; Zheng, B. X.; Huang, X. H.; She, M. T.; Liu, A. L.; Zhang, K.; Wong, W. L.; Lu, Y. J. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2125.
- [38] Chen, H. B.; Sun, H. X.; Zhang, S. G.; Yan, W. P.; Li, Q.; Guan, A. J.; Xiang, J. F.; Liu, M. R.; Tang, Y. L. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 5060.
- [39] Wang, S. W.; Yang, D. Z.; Singh, M.; Joo, H.; Rangel, V. M.; Tran, A.; Phan, E.; Xue, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *175*, 20.
- [40] Yu, L. J.; Yang, Q. F.; Tang, Y. L. *Chin. Chem. Lett.* **2019**, *30*, 694.
- [41] Sun, R. R.; Guo, X. M.; Yang, D. W.; Tang, Y. L.; Lu, J.; Sun, H. X. *Talanta* **2021**, *226*, 122125.
- [42] Yang, Q. F.; Xiang, J. F.; Yang, S.; Zhou, Q. J.; Li, Q.; Tang, Y. L.; Xu, G. Z. *Chem. Commun.* **2009**, 1103.
- [43] Yang, Q. F.; Xiang, J. F.; Yang, S.; Li, Q.; Zhou, Q. J.; Guan, A. J.; Zhang, X. F.; Zhang, H.; Tang, Y. L.; Xu, G. Z. *Nucleic Acids Res.* **2010**, *38*, 1022.
- [44] Yang, Q. F.; Xiang, J. F.; Yang, S.; Li, Q.; Zhou, Q. J.; Guan, A. J.; Li, L.; Zhang, Y. X.; Zhang, X. F.; Zhang, H.; Tang, Y. L.; Xu, G. Z. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9135.
- [45] Gai, W.; Yang, Q. F.; Xiang, J. F.; Jiang, W.; Li, Q.; Sun, H. X.; Guan, A. J.; Shang, Q.; Zhang, H.; Tang, Y. L. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, 2709.
- [46] Gai, W.; Yang, Q. F.; Xiang, J. F.; Jiang, W.; Li, Q.; Sun, H. X.; Yu, L. J.; Shang, Q.; Guan, A. J.; Zhang, H.; Tang, Y. L. *Analyst* **2013**, *138*, 798.
- [47] Wang, L. X.; Zhang, J. T.; Sun, X.; Yang, D. W.; Tang, Y. L. *Dyes Pigm.* **2021**, *185*, 108882.
- [48] Ihmels, H.; Thomas, L. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 480.
- [49] Ihmels, H.; Mohamed, M. A. M.; Patrick, B. O. *J. Phys. Org. Chem.* **2017**, *30*, e3736.
- [50] Ihmels, H.; Jiang, S. Y.; Mohamed, M. A. M.; Schönherr, H.; Wesner, D.; Zamrik, I. *Langmuir* **2018**, *34*, 11866.
- [51] Guan, L.; Zhao, J. L.; Sun, W.; Deng, W. T.; Wang, L. Y. *ACS omega* **2020**, *5*, 26056.
- [52] Jin, B.; Zhang, X.; Zheng, W.; Liu, X. J.; Zhou, J.; Zhang, N.; Wang, F. Y.; Shangguan, D. H. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 7063.
- [53] Grande, V.; Doria, F.; Freccero, M.; Würthner, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, *56*, 7520.
- [54] Chen, S.-H.; Chen, Q.; Luo, S.-H.; Cao, X.-Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2021**, *41*, 919 (in Chinese).
(陈思鸿, 陈淇, 罗时荷, 曹西颖, 有机化学, **2021**, *41*, 919.)

(Zhao, C.)