

一种基于吩噻嗪的红光发射黏度荧光 探针的合成及细胞成像*

赵允嘉, 张 雪, 李嘉乐, 胡 磊, 王 慧**

(皖南医学院 药学院, 安徽 芜湖 241002)

[摘 要] 线粒体作为备受关注的亚细胞器之一, 其黏度异常与许多疾病的发生发展密切相关, 常见的有高血压、糖尿病、慢性肝肾疾病等。因此, 监测线粒体黏度水平对相关疾病的诊断和治疗尤为重要。以吩噻嗪衍生物和吡啶盐为原料, 设计合成了一种 D- π -A 构型的探针 ZYJ。光物理性质研究结果表明, 探针 ZYJ 在不同有机溶剂中的发射波长均达到了 600 nm, 可有效避免生物组织自发荧光的干扰。此外, 探针 ZYJ 还表现出对黏度敏感的特性, 且不易受到其他分析物的影响, 并能在 pH 为 6~12 的范围内保持稳定。细胞实验结果表明, 探针 ZYJ 具有低细胞毒性, 与线粒体商业染料 (Mitotracker Green) 的共定位系数达到了 0.91, 可精准靶向于细胞的线粒体部位, 且可以监测细胞中线粒体的黏度变化。综上所述, 探针 ZYJ 不仅可为黏度响应性分子的设计合成提供新思路, 也可为由线粒体黏度异常所导致的相关疾病检测提供新方法。

[关键词] 吩噻嗪衍生物; 红光发射; 黏度响应; 线粒体靶向

[中图分类号] O657.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1674-5639 (2025) 06-0114-07

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2025.06.015

线粒体作为细胞内较为复杂的亚细胞器之一, 能够为细胞提供能量, 且参与了细胞中众多生理过程, 如能量代谢、细胞凋亡、遗传物质的转录和翻译等^[1-3]。线粒体黏度是一个关键的微环境指标, 与其状态密切相关^[4-6]。异常的黏度变化可能会导致线粒体代谢异常, 从而引发多种疾病, 例如恶性肿瘤、高血压、糖尿病、慢性肝肾疾病等^[7,8]。因此, 检测线粒体黏度变化具有十分重要的现实意义。但用于检测黏度的传统方法, 如毛细管黏度计和落球黏度计为侵入性手段, 并不适用于生物体微环境黏度的测量^[9,10]。为满足日益增长快速、精准测量需求, 开发能显著提升黏度检测效率与精度的技术已迫在眉睫。

近年来, 荧光探针因其灵敏度高、响应速度快、无创、可视化等优点, 在众多检测手段中脱颖而出, 并且已被广泛用于线粒体黏度的检测^[11,12]。例如, 2022 年, Xie 团队^[13]设计了一种荧光探针 X-V, 该探针不仅适用于不同药物刺激的细胞内黏度变化, 还可用于检测 HIRI 细胞模型中的细胞黏度变化; 2022 年, Liu 课题组^[14]基于蔡二甲胺-吡啶鎓盐和芳基二苯基次膦酸酯基团构建了一种多功能探针 XND-1, 可特异性检测线粒体中的黏度和 ONOO⁻变化; 2023 年, Lin 团队^[15]合成了一种半花菁衍生物荧光探针 LBX-1, 用于在亚细胞水平上检测黏度和细胞成像; 2025 年, He 课题组^[16]通过四苯乙烯和三苯胺衍生物, 设计合成了两种荧光探针 (HSL-1 和 HSL-2), 其中 HSL-1 表现出更优异的生物相容性, 能够实时检测线粒体黏度变化并识别 HeLa 细胞中线粒体自噬触发的黏度异常; 2025 年, Yuan 等^[17]设计并合成了一种黏度敏感荧光探针 HPQ-MV, 通过引入吡啶阳离子和 HPQ (2-(2'-羟基苯基)-4(3H)-喹啉酮) 部分使探针 HPQ-MV 具有优异的线粒体靶向特性, 并降低其水溶性, 使探针不易扩散。众所周知, 具有红光发射的荧光探针具备组织穿透力强、生物背景干扰低、样品光损伤弱等诸多优势而被广泛应用^[18,19]。然而, 现有

* [收稿日期] 2025-04-28

[作者简介] 赵允嘉, 女, 安徽亳州人, 皖南医学院在读本科生, 研究方向为荧光探针合成及生物成像。

** [通信作者] 王慧, 女, 安徽砀山人, 皖南医学院副教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向为荧光探针合成及生物应用, E-mail: wanghies@126.com.

[基金项目] 安徽省高校自然科学基金项目 (2023AH051762, 2023AH051747); 皖南医学院大学生科研资助金项目 (WK2024XS38)。

的线粒体黏度荧光探针往往不具备红光发射的特性, 且受限于复杂的合成过程和较差的生物相容性等缺点. 开发一种合成简单、性质优良、生物相容性好的红光发射荧光探针, 将为直接监测线粒体黏度变化提供关键工具.

吩噻嗪作为一种杂蒽结构, 含有富电子的氮、硫原子, 供电性强于一般的芳胺化合物, 并且有利于抑制分子聚集猝灭, 适合作为供体应用于有机共轭材料中^[20]. 基于此, 课题组拟以吩噻嗪衍生物为电子给体 (D), 碳碳双键为 π 桥, 吡啶盐衍生物为电子受体 (A), 通过缩合反应设计合成一种具有 D- π -A 构型的探针 ZYJ, 并系统研究其对黏度的响应性质, 探讨其在监测细胞中线粒体黏度变化的潜力.

1 实验部分

1.1 实验器材

仪器: Bruker Avance 400 型核磁共振仪 (TMS 作为内标) (德国 Bruker 公司); UV-5900PC 型紫外可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司); HITACHI F-4600 型荧光分光光度计 (日本日立公司); 测定条件: ZYJ 的激发波长为 480 nm, 狭缝宽度均设定为 10 nm, 电压为 500 V.

试剂: 无水乙醇、哌啶、二氯甲烷、甲醇、2-溴乙醇等试剂均为分析纯, 购于上海阿拉丁试剂有限公司.

1.2 探针 ZYJ 的合成

称取化合物 A 0.36 g (1 mmol) 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 20 mL 无水乙醇加热溶解, 待化合物 A 完全溶解后, 再加入化合物 B 0.28 g (1.3 mmol), 随后滴加 5 滴哌啶, 83 °C 下回流反应 24 h, 合成路线如图 1 所示. 反应体系结束后, 冷却至室温, 减压除去大部分溶剂, 粗产物经硅胶柱层析 (二氯甲烷: 甲醇 = 5:1, V/V) 得到红棕色固体 0.14 g, 产率为 38.89%. ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 8.86 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 8.24 ~ 8.18 (m, 3H), 7.56 ~ 7.50 (m, 4H), 7.23 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.19 ~ 7.12 (m, 2H), 7.07 (t, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.41 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.56 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.96 ~ 3.81 (m, 4H), 1.71 ~ 1.65 (m, 2H), 1.46 ~ 1.37 (m, 2H), 0.97 ~ 0.84 (m, 3H). HRMS: 理论值 485.171 58 ([M-Br]⁺); 实验值 485.172 00.

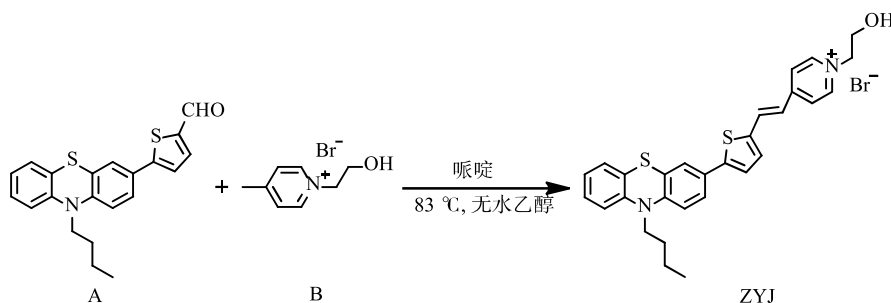


图 1 探针 ZYJ 的合成路线

2 结果与讨论

2.1 光物理性质

为了研究探针 ZYJ 的光物理性质, 测试了探针在不同有机溶剂中的紫外可见吸收光谱和荧光发射光谱. 如图 2 (a) 所示, 探针 ZYJ 在甘油中的吸收峰相较于其他溶剂 (乙醇除外) 呈现出了红移趋势, 主要归因于高黏度介质抑制了其单键自由旋转, 从而增大了化合物的共轭程度^[21,22]. 由图 2 (b) 可知, 在激发波长为 480 nm 的情况下, 探针 ZYJ 在不同溶剂中的发射波长均大于 600 nm, 达到了红光发射. 此外, 由于探针 ZYJ 在甘油中的荧光强度最高, 因此, 有理由猜测 ZYJ 可能具有对黏度响应的潜在能力.

2.2 黏度响应

为了进一步探究探针 ZYJ 对黏度的响应情况, 本研究测试了探针 ZYJ 在不同 (甘油: 水, V/V) 溶剂中的荧光发射光谱. 从图 3 (a) 中可以发现, 随着甘油所占比例的增加, 探针 ZYJ 的荧光强度整体呈现上升趋势. 其原因可能在于: 当探针 ZYJ 处于激发态时, 低黏度溶剂体系允许 C—C 单键的自由旋转, 非辐射衰减的通道不受抑制, 因此产生荧光强度较微弱; 而高黏度溶剂体系会限制分子中单键的自由旋

转, 扭曲的分子内电荷转移 (TICT) 过程受限, 减少了非辐射通道的能量耗散, 从而导致荧光强度增大^[23]. 此外, 通过图 3 (b) 能清晰地看出化合物的最大荧光强度与黏度参数 ($\log \eta$) 之间存在良好的线性关系 ($R^2 = 0.9108$). 可见, 探针 **ZYJ** 具有对黏度响应的特性, 是一种优良的黏度检测分子.

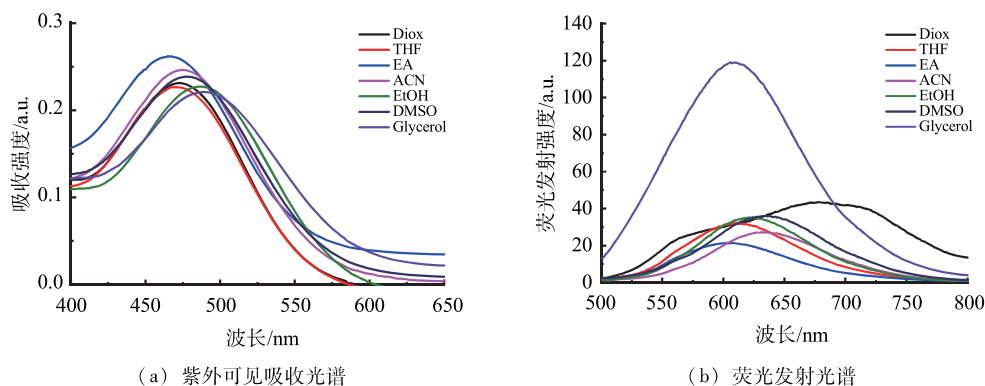
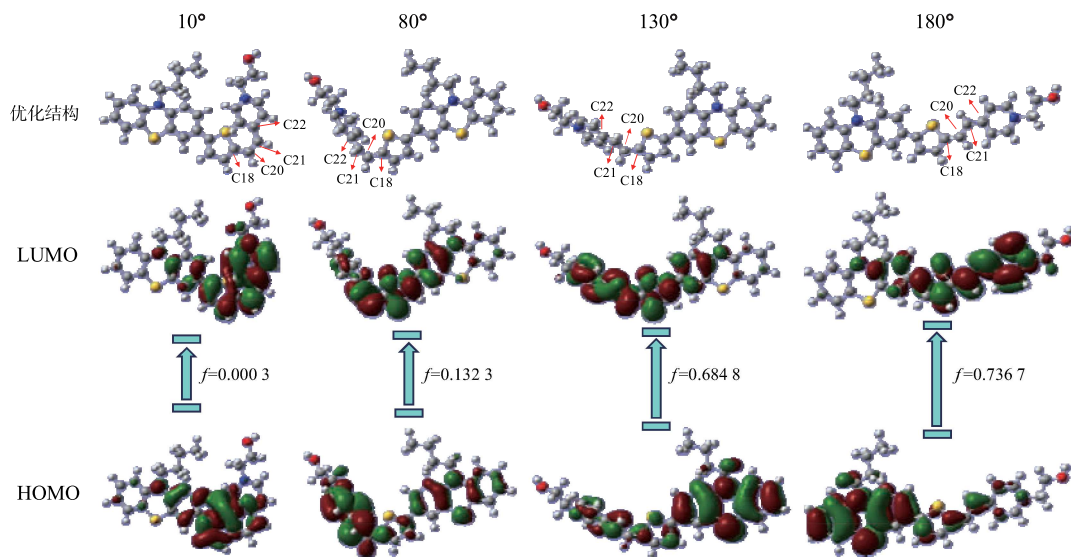
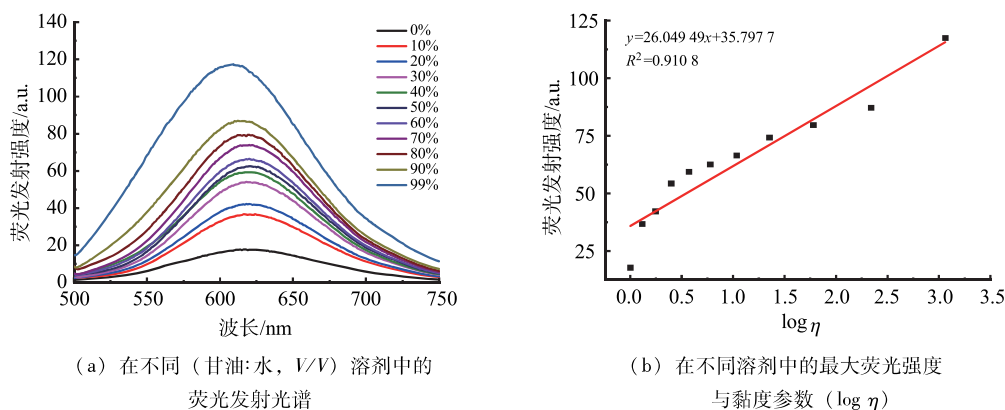


图 2 探针 ZYJ 在不同极性溶剂中光谱



(c) 探针 ZYJ 的优化结构及电子轨道分布图

图 3 探针 ZYJ 对黏度的响应性质研究

为阐明黏度响应原理, 使用 Gaussian 软件对探针 **ZYJ** 进行理论计算. 在图 3 (c) 中, 分别计算了分子在不同二面角 (10° 、 80° 、 130° 和 180°) 状态下的电子轨道分布. 可以发现, 随着黏度的升高, 即 C18—C20—C21—C22 二面角的不断增大, 分子从基态跃迁至激发态的振子强度 (f) 逐步由 0.0003 增至 0.1323, 0.6848 和 0.7367. 在此过程中, 分子结构中的二面角由 10° 向 80° 过渡, 探针的平面性降低,

处于自由扭曲状态 (TICT 态), 电子的转移过程有所受限, 非辐射跃迁占主导地位, 导致荧光减弱. 而当二面角由 80° 旋转至 130° 或 180° 时, 荧光分子呈现出平面构象, 此时分子的电荷流通性较 TICT 态的更好. 由于分子的扭曲在最大程度上被限制, 所以 TICT 过程也就受到了抑制, 致使探针的荧光发射增强^[24,25]. 高斯理论计算结果与图 3 (a) 的实验结果一致, 再次说明探针 ZYJ 具备优良的黏度检测性能.

2.3 抗干扰实验

相对稳定的内环境是机体行使正常生理功能的首要条件. 因此, 需探究探针 ZYJ 在不同分析物和 pH 条件下的荧光强度. 测试结果如图 4 (a) 所示, 当 pH 处在 6~12 的范围内时, 探针 ZYJ 的荧光强度保持相对稳定, 可见其适用于体内环境的研究. 探针 ZYJ 在不同分析物存在下对甘油响应情况的荧光发射光谱, 如图 4 (b) 所示. 在甘油环境中加入不同的分析物 (从左到右依次是: 1 对照组; 2 CH_3COONa ; 3 CuBr_2 ; 4 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$; 5 MgSO_4 ; 6 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$; 7 NaF ; 8 NaH_2PO_4 ; 9 NaHCO_3 ; 10 L-甲硫氨酸; 11 L-精氨酸; 12 L-赖氨酸; 13 L-脯氨酸; 14 L-丝氨酸; 15 L-缬氨酸; 16 乙酸铜; 17 L-异亮氨酸; 18 L-组氨酸, 其中探针 ZYJ 的浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$, 分析物的浓度为 $200 \mu\text{mol/L}$), 探针 ZYJ 产生的荧光强度比值基本一致, 说明其具有较好的抗干扰能力.

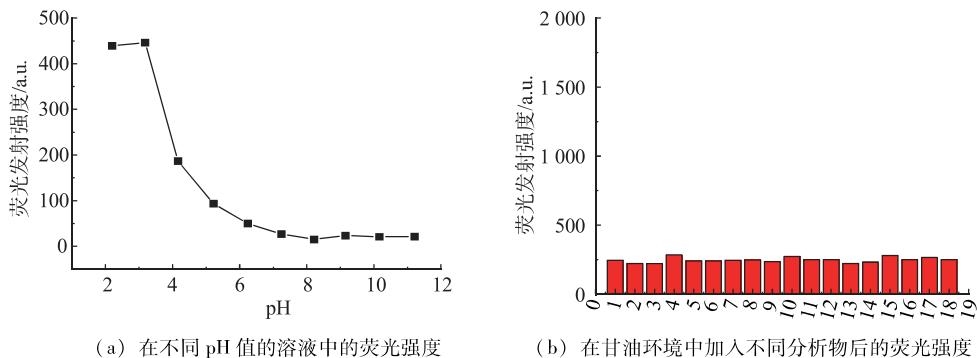


图 4 探针 ZYJ 的抗干扰测试

2.4 生物测试

为评估探针 ZYJ 的生物相容性, 进行了细胞毒性测试. 由图 5 可知, 不同浓度的探针 ZYJ 与 HepG2 细胞共孵育一段时间后, 细胞存活率均在 70% 以上, 表明其具有较低的生物毒性, 可进一步用于细胞成像. 共定位实验结果 (图 6) 表明探针 ZYJ 与线粒体商业染料的皮尔森系数达到了 0.91, 可精准靶向于细胞的线粒体部位.

为验证探针 ZYJ 监测细胞内线粒体黏度的能力, 以制霉菌素 (Nys) 作为黏度诱导剂^[26,27] 在 HepG2 细胞中进行实验. 将 HepG2 细胞接种在 3 组共聚焦小皿中, 待密度涨至

65% 时进行实验. 在 3 组小皿中分别加入不同浓度 (0, 100, 300 $\mu\text{mol/L}$) 的制霉菌素, 与细胞共同培育 1 h, 然后将小皿中的培养基吸出, 重新加入含探针 ZYJ (浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$) 的新鲜培养基溶液再继续培养 30 min, 各用 PBS 缓冲液清洗两遍, 然后直接用于共聚焦测试, 以此来检测细胞线粒体黏度的变化. 由图 7 (a) 可知, 用探针 ZYJ 孵育的 HepG2 细胞在加入不同浓度的制霉菌素预处理后, 观察到其荧光显著增强. 图 7 (b) 进一步定量地展示这种荧光强度与 Nys 浓度之间的正相关关系. 上述实验结果证实, 探针 ZYJ 能够有效监测细胞线粒体的黏度变化.

表 1 比较了探针 ZYJ 与部分已报道的黏度荧光探针. 对比数据可以看出, ZYJ 的斯托克斯位移 (117 nm) 明显大于 NVP (77 nm)、XAN-V (81 nm)、PPF-1 (81 nm) 和 L (100 nm), 但与 DPTP (121 nm) 探针相似. 较大的斯托克斯位移有助于减少探针的自吸收, 并能有效降低过强的背景干扰, 从而提高荧光显像质量. 此外, 与表中的大多数探针相比, ZYJ 的发射波长较长, 达到了红光发射, 能有效避免生物样本产生的自发荧光, 降低假阳性信号. 综上所述, 探针 ZYJ 的综合性能, 尤其在斯托克斯位移和发

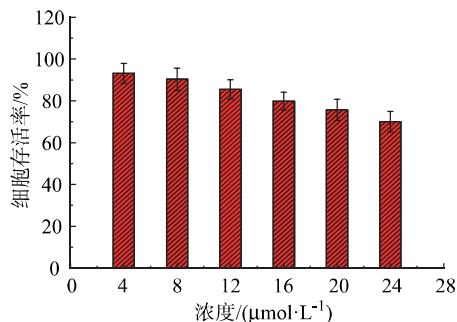


图 5 探针 ZYJ 的细胞毒性实验

射波长方面, 展现了其独特的优势. 凭借上述优势, 该探针在细胞成像领域展现出广阔的应用前景.

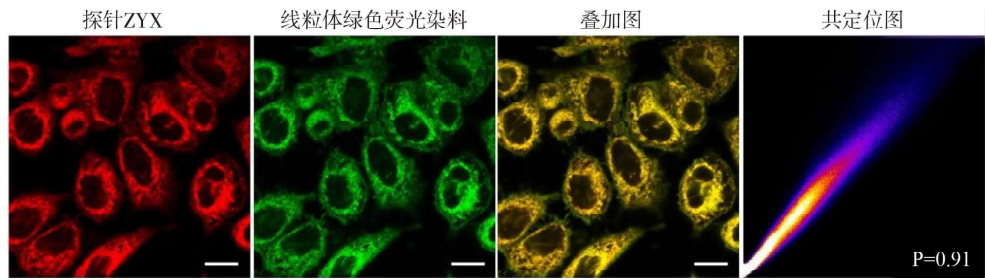
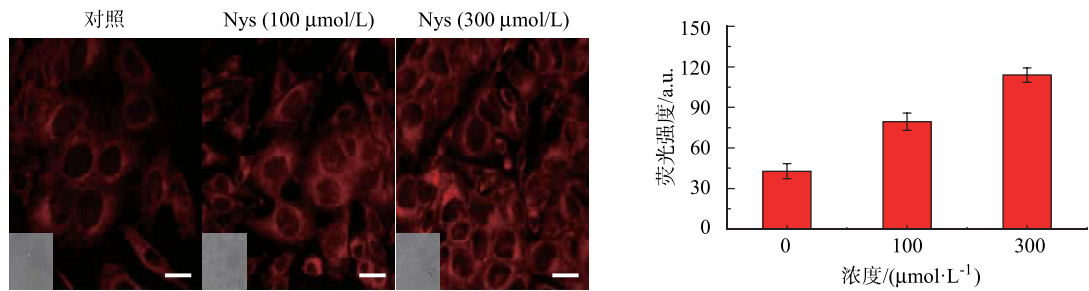


图 6 探针 ZYJ 与线粒体商业染料的共定位成像图 (标尺: 10 μm)



(a) 不同浓度 Nys 刺激下细胞被探针 ZYJ 标记的共聚焦成像 (标尺: 10 μm) (b) 不同浓度 Nys 刺激后细胞的荧光强度

注: $\lambda_{\text{ex}} = 442 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 600 \sim 650 \text{ nm}$.

图 7 不同浓度 Nys 刺激 HepG2 细胞后探针 ZYJ 标记细胞的荧光显微成像

表 1 探针 ZYJ 与其他黏度荧光探针的性质对比

探针	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	斯托克斯位移/ nm	黏度荧光增加倍数	应用	文献
DEA-DCM	470	—	>6	细胞	[28]
DPTP	531	121	>9	细胞, 组织	[29]
QUI-VI	590	150	1200	细胞, 组织	[30]
NVP	457	77	20.2	细胞, 斑马鱼	[31]
YPE	542	—	>100	细胞	[32]
BSZ-Ph	730	117	6.32	细胞	[33]
QL-VB	680	100	180	细胞, 器官, 活体	[34]
ACR-DMA	710	181	150	细胞, 器官, 活体	[35]
XAN-V	767	81	64	细胞, 组织, 斑马鱼	[36]
MMN	585	—	70	细胞, 组织, 活体	[37]
L	780	100	>100	细胞, 活体	[38]
PPF-1	584	81	26.7	细胞	[39]
ZYJ	606	117	5.6	细胞	本工作

3 结 论

本文基于吩噻嗪衍生物和吡啶盐的缩合反应, 合成了一种具有 D- π -A 构型的探针 **ZYJ**. 该探针以乙炔键为分子转子, 实现了对线粒体黏度的响应. 此外, 在结构中引入吡啶盐部分可作为靶向线粒体的有效基团. 光物理性质研究表明, 探针 **ZYJ** 具有红光发射特性, 并对黏度敏感, 表明分子转子策略的有效性. 同时探针 **ZYJ** 不易受到其他分析物的影响, 具有良好的抗干扰能力, 且荧光强度在 pH 为 6~12 的范围内较为稳定. 通过进一步的细胞毒性实验和共定位实验可知, 探针 **ZYJ** 具有较低细胞毒性, 吡啶盐的引入使其可精准靶向于细胞的线粒体部位. 不仅如此, 该探针还能有效监测细胞中线粒体黏度的变化. 综上所述, 探针 **ZYJ** 有望为线粒体黏度异常相关疾病的检测和诊疗提供新思路, 并为相关医疗技术提供新方法.

[参考文献]

- [1] WANG S F, CHEN S, TSENG L M, et al. Role of the mitochondrial stress response in human cancer progression [J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2020, 245 (10): 861-878.
- [2] GUO J, FANG B, BAI H, et al. Dual/Multi-responsive fluorogenic probes for multiple analytes in mitochondria: From design to applications [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2022, 155: 116697.
- [3] YANG R, ZHU C, YANG X, et al. Simultaneous dual-color visualization of lysosome, mitochondria, nucleoli and monitoring apoptosis with a single fluorescent probe [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2025, 424: 136912.
- [4] CHEN Z, MIAO Z, WANG H P, et al. ROS-tolerant and mitochondria-targeted fluorescent probe for accurate decipherment of viscosity change in mitochondria [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2025, 424: 136911.
- [5] ZHENG X G, ZHANG H S, WANG Y Y, et al. Fabricating a mitochondrial viscosity-activated fluorescent probe for highly sensitive imaging of kidney injury in vivo [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2025, 441: 137972.
- [6] HONG J, GUAN X, CHEN Y, et al. Mitochondrial membrane potential independent near-infrared mitochondrial viscosity probes for real-time tracking mitophagy [J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95 (13): 5687-5694.
- [7] REN M, ZHOU K, WANG L, et al. Construction of a ratiometric two-photon fluorescent probe to monitor the changes of mitochondrial viscosity [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 262: 452-459.
- [8] WU Y, SHU W, ZENG C, et al. A mitochondria targetable and viscosity sensitive fluorescent probe and its applications for distinguishing cancerous cells [J]. *Dyes and Pigments*, 2019, 168: 134-139.
- [9] ZOU H Y, WANG Z C, LIU X H, et al. A near-infrared fluorescence probe for sensing mitochondrial viscosity in cells and mice [J]. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2025, 338: 126175.
- [10] HUANG Y, GAO Z, FAN F. Construction of a mitochondria-targeted NIR probe with large Stokes shift for real-time monitoring viscosity changes during ferroptosis [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2025, 342: 126488.
- [11] HU Z, ZHANG S, ZHANG C, et al. Donor-acceptor units modulate the electronic and photoluminescence characteristics of thiophene oligomers [J]. *Journal of Applied Physics*, 2019, 126 (24): 245501.
- [12] ZHAO P, LU D, LI L, et al. Molecular engineering to achieve AIE-active fluorophore with near-infrared (NIR) emission and temperature-sensitive property [J]. *Journal of Fluorescence*, 2024, 34 (3): 1109-1117.
- [13] XIE D, MA W, WANG C, et al. Mitochondria-targeted fluorescent probe for imaging viscosity in hepatic ischemia-reperfusion injury cell model [J]. *Chemical Communications*, 2023, 59 (8): 1030-1033.
- [14] LIU Y, MA Y, LIN W. Construction of a large stokes shift fluorescent probe for dual detection of mitochondrial viscosity and ONOO⁻ and its application in bioimaging [J]. *Talanta*, 2023, 253: 124023.
- [15] Li X Y, Guo R, Gong X, et al. A novel viscosity-sensitive fluorescent probe for monitoring the changes of mitochondrial viscosity [J]. *Luminescence*, 2023, 38: 1618-1623.
- [16] HE S L, WANG G B, CHENG X L, et al. Aggregation-induced emission-twisted intramolecular charge transfer-activated fluorescent probe for analyzing mitochondrial viscosity in cells and zebrafish [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2025, 332: 125831.
- [17] YUAN L, LIU Y, GUAN C, et al. A mitochondria-targeted fluorescent probe based on an anti-diffusion strategy for in situ imaging of fatty liver, inflammation and cancer [J]. *Talanta*, 2025, 285: 127364.
- [18] WANG B, YANG D, ZHONG X, et al. A red-emission fluorescent probe with large stokes shift for detection of viscosity in living cells and tumor-bearing mice [J]. *Molecules*, 2024, 29 (9): 1993.
- [19] PAN Y, YANG Q, XU H, et al. Screening and optimization of a water-soluble near-infrared fluorescent probe for drug-induced liver injury monitoring [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2023, 1276: 341654.
- [20] 夏博宇. 二吡啶并吩噻嗪共轭分子的合成及其光电性能研究 [D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2022.
- [21] YANG W, ZHU W, ZHOU W, et al. Novel quadruple fluorescence of donor-acceptor benzoylthiourea derivatives [J]. *RSC Advances*, 2012, 2 (24): 8998-9004.
- [22] AGOU T, HAYAMA S, TAKANO N, et al. Synthesis and optical properties of dithieno-1, 4-thiaborins bearing electron-donating amino groups [J]. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2024, 97 (2): 1348-0634.
- [23] ARYAMUEANG S, CHANSAENPAK K, WATWIANGKHAM A, et al. Imidazole-based styryl dyes as viscosity-sensitive agents [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2024, 447: 115268.

- [24] SREEJAYA M M, M PILLAI V, A A, et al. Mechanistic analysis of viscosity-sensitive fluorescent probes for applications in diabetes detection [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2024, 12 (12): 2917-2937.
- [25] YUAN M, QIN H, WANG Y, et al. Mitochondria-targeted fluorescent probes based on coumarin-hemicyanine for viscosity changes and their applications in cells and mice [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2025, 325: 125105.
- [26] TAN X, HONG J, JIANG S, et al. Near-infrared fluorescent probe reveals elevated mitochondrial viscosity during acute alcoholic liver injury [J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96 (37): 14860-14866.
- [27] ZHANG S, ZHANG Y, ZHAO L, et al. A novel water-soluble near-infrared fluorescent probe for monitoring mitochondrial viscosity [J]. *Talanta*, 2021, 233: 122592.
- [28] 张奕祺, 方鑫航, 王昊, 等. 香豆素荧光探针的合成及其在不同通道对细胞内极性和黏度的检测 [J]. *分析测试学报*, 2024, 43 (12): 1965-1970.
- [29] 赵坤仪. 细胞器靶向黏度荧光探针的构建及其生物应用研究 [D]. 太原: 山西大学硕士学位论文, 2024.
- [30] 武虹乐, 郭锐, 迟涵文, 等. 喹啉基黏度荧光探针的合成及其检测应用 [J]. *化学学报*, 2023, 81 (8): 905-911.
- [31] 王静超. 基于 ICT 机理荧光探针的构建及成像应用 [D]. 济南: 济南大学硕士学位论文, 2023.
- [32] 张朗笛. 用于检测黏度和二氧化硫多功能小分子荧光探针的设计合成与成像应用 [D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2024.
- [33] LI Y, WANG Y, LI Y, et al. Construction and evaluation of near-infrared fluorescent probes for imaging lipid droplet and lysosomal viscosity [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2024: 316, 124356.
- [34] QIAN M, YE Y, REN T B, et al. Cancer-targeting and viscosity-activatable near-infrared fluorescent probe for precise cancer cell imaging [J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96 (33): 13447-13454.
- [35] PAN X, ZHAO Y, WANG J L, et al. Mitochondrial membrane potential-independent near-infrared fluorescent probes for viscosity-exclusive imaging [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2025, 13 (1): 177-183.
- [36] WANG A, LIU K, SHU W, et al. An ingenious near-infrared fluorescent probe for detection of viscosity in biosystems and beverages [J]. *Microchemical Journal*, 2025, 209 (1): 112734.
- [37] LEI P, WEI P, DONG C, et al. A triple-targeting and viscosity-sensitive fluorescence probe for visualization of liver injury and tumor models [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2025, 434: 137614.
- [38] ZHANG E, ZHANG Q, WANG S, et al. A dual-emission fluorescent probe with independent polarity and viscosity responses: The synthesis, spectroscopy and bio-imaging applications [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2024, 323: 124873.
- [39] YANG Y, GUO R, HU K, et al. An efficient lipid droplet-targeted fluorescent probe for detection of intracellular viscosity [J]. *Luminescence*, 2024, 39 (4): 4749.

Synthesis and Cell Imaging of a Phenothiazine-based Red Emission Viscosity Fluorescence Probe

ZHAO Yunjia, ZHANG Xue, LI Jiale, HU Lei, WANG Hui

(School of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui, China 241002)

Abstract: In recent years, mitochondria have emerged as one of the most extensively studied subcellular organelles, with their aberrant viscosity being closely implicated in the pathogenesis and progression of various diseases, including hypertension, diabetes and chronic hepatic/renal disorders. Therefore, monitoring of mitochondrial viscosity levels is particularly important for the diagnosis and treatment of related diseases. Using phenothiazine derivatives and pyridinium salts as starting materials, a D- π -A-configured probe ZYJ was designed and synthesized in this study. Photophysical characterization revealed that probe ZYJ exhibited emission maxima reaching 600 nm across various organic solvents, thereby effectively circumventing autofluorescence interference from biological tissues. Furthermore, probe ZYJ demonstrated pronounced viscosity-sensitive characteristics, exhibited resistance to interference from other analytes, and maintained stability over a pH range of 6-12. Cellular assays demonstrated that probe ZYJ exhibited low cytotoxicity, achieved a colocalization coefficient of 0.91 with the commercial mitochondrial dye Mitotracker Green, demonstrated precise mitochondrial targeting in cells, and enabled real-time monitoring of mitochondrial viscosity fluctuations. In summary, probe ZYJ not only provides a novel design strategy for viscosity-responsive molecular probes, but also establishes innovative diagnostic approaches for disorders associated with aberrant mitochondrial viscosity.

Key words: phenothiazine derivatives; red emission; viscosity response; mitochondria-targeting

(责任编辑: 陈伟超)