

罗丹明类荧光探针在疾病诊断中的应用进展

孙欣雨, 发如再·麦合木提, 叶晓晓, 张杰

锦州医科大学药学院, 辽宁 锦州

收稿日期: 2026年5月13日; 录用日期: 2026年6月15日; 发布日期: 2026年6月25日

摘要

在荧光染料中, 罗丹明凭借卓越的荧光量子产率、良好的光学稳定性及可精细调节的光谱性质, 受到了研究者的广泛青睐, 并在疾病精确诊疗领域作为分子示踪剂显示了巨大的潜力。研究者们通过对罗丹明骨架的化学修饰、识别基团的设计以及与其他模态成像技术的结合, 在阿尔茨海默病(AD)标志物、氧化应激产物、恶性肿瘤特异性蛋白及与生理病理相关的金属离子检测方面取得了显著成果, 大幅度提升了检测的灵敏度与生物样本中的信噪比。本文从罗丹明探针的结构演化与合成逻辑入手, 系统性地综述了与罗丹明有关的荧光探针在神经退行性疾病、代谢紊乱及炎症等重大疾患中的诊断应用现状及所存在的瓶颈和问题, 以期为新一代罗丹明类荧光探针的研发提供参考。

关键词

罗丹明, 荧光探针, 疾病诊断, 阿尔茨海默病, 生物标志物, 多模态成像

Recent Advances in Rhodamine-Based Fluorescent Probes for Disease Diagnosis

Xinyu Sun, Farazai·Mahemuti, Xiaoxiao Ye, Jie Zhang

College of Pharmacy, Jinzhou Medical University, Jinzhou Liaoning

Received: May 13, 2026; accepted: June 15, 2026; published: June 25, 2026

Abstract

Rhodamine dyes have garnered widespread attention among researchers owing to their exceptional fluorescence quantum yield, robust photostability, and precisely tunable spectral properties. Consequently, they exhibit immense potential as molecular tracers in the field of precision disease theranostics. Through chemical modification of the rhodamine scaffold, rational design of recognition moieties, and integration with other imaging modalities, substantial breakthroughs have been achieved in detecting Alzheimer's disease (AD) biomarkers, oxidative stress products, tumor-

specific proteins, and pathologically relevant metal ions. These strategies have drastically enhanced detection sensitivity and the signal-to-noise ratio in biological samples. Beginning with the structural evolution and synthetic logic of rhodamine probes, this review systematically outlines their current diagnostic applications in major diseases such as neurodegenerative disorders, metabolic dysfunction, and inflammation. Furthermore, we discuss the existing bottlenecks and technical challenges, aiming to provide a reference for the development of next-generation rhodamine-based fluorescent probes.

Keywords

Rhodamine, Fluorescent Probe, Disease Diagnosis, Alzheimer's Disease, Biomarker, Multimodal Imaging

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

荧光探针技术凭借高灵敏度、实时响应和非侵入性等特点，在疾病早期诊断与生物标志物检测中占据着重要位置[1]-[4]。在各类荧光染料骨架里，罗丹明类染料一直是研究者们核心选择之一——它不仅光学性能突出，结构也容易被修饰改造。罗丹明类染料的激发波长多处于绿-黄光区，发射可延伸至红光甚至近红外区间，再加上荧光效率高、耐光漂白、生物相容性较好，在生物成像与诊断研究中作为潜力分子被广泛探索和应用[5]-[7]。

罗丹明分子最特殊的地方在于它的螺内酯环结构带来的荧光开关机制：闭环时不发光，开环后产生强荧光，而触发这种切换的因素很多，比如，在特定条件下的 pH 变化、金属离子配位或酶促反应等都可以实现螺内酯环的打开从而诱发荧光开启[8]。和传统稳态荧光分子相比，把氧杂蒽母核 10 位的氧替换成硅、硫等杂原子后，不仅能实现光谱红移，还能提升深层组织成像的抗干扰能力[9] [10]。

近几年，罗丹明探针在多种重大疾病的诊断中都取得了较为亮眼的成果。比如在神经退行性疾病方向，罗丹明-铜配合物探针 Rho4-Cu 实现了对阿尔茨海默病标志物 A β 42 的纳摩尔级检测与活体成像[11]；代谢疾病方面，罗丹明 B 与铜纳米簇构建的比率型探针，为氧化应激产物 3-硝基酪氨酸(3-NT)的快速临床检测提供了新思路[12]；肿瘤诊断中，罗丹明标记的核酸适配体探针可高效捕获循环肿瘤细胞，为液体活检提供了新工具[13]。同时，结合荧光共振能量转移(FRET)、聚集诱导发光(AIE)等信号放大策略，再搭配纳米载体与多模态成像，罗丹明探针的检测与成像性能一直在不断优化[14]-[16]。但从实验室走向临床，罗丹明探针依然面临不少现实问题：生物相容性、体内稳定性、深组织穿透能力，以及合成与检测的标准化等，都是需要突破的瓶颈。本文就围绕这些内容，总结罗丹明探针的设计思路、应用进展，分析优势与不足，并对未来发展方向进行展望。

2. 罗丹明荧光探针的设计策略与合成方法

2.1. 罗丹明结构的特性及调控机制

罗丹明染料的母核由氧杂蒽环经螺内酯与苯环稠合而成，这个螺环结构自带“荧光开关”，如图 1 所示，pH、金属离子、酶或生物大分子结合等刺激都能让它开环发光，是设计环境响应型探针的理想骨架[8] [17] [18]。为适配不同诊断场景，研究者主要从两方面调控其光学性能：一是直接修饰化学结构调

节光谱。例如利用邻位甲氧基补偿效应得到的 3-甲氧基氨基罗丹明, 在乙醇中量子产率可达 0.51, 信噪比明显提升, 已用于药物诱导肾缺氧成像[19]; 用醚链替代传统 N-烷基, 则能提高水溶性, 罗丹明与硅罗丹明在水中的量子产率分别可达 0.70 和 0.41 [10]。二是进行异原子取代, 把氧杂蒽 10 位的氧换成硅或硫, 可使吸收与发射波长红移, 同时提升量子产率和光稳定性[9] [20]。

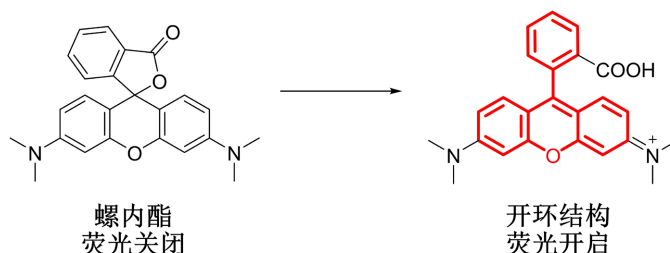


Figure 1. Schematic diagram of the response of rhodamine-based fluorescent probes

图 1. 罗丹明类荧光探针响应示意图

把罗丹明与聚合物或纳米载体结合, 也是提升整体性能的常用办法。经聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)修饰后, 罗丹明的水溶性更好, 非特异性吸附与背景干扰更低[21]; 纳米载体还能实现探针的可控释放与多模式成像[22]。在合成上, 无保护基的 4-羧基罗丹明高效路线已被开发, 步骤更短、产率更高, 为生物相容性探针的规模化制备打下了基础[23]。

2.2. 典型合成路线与功能化策略

罗丹明探针大多以罗丹明 B、罗丹明 6G 为母体, 通过金属配位或共价修饰引入识别单元。在金属配位方向, 利用螺内酯环对金属离子的响应可构建高选择性探针, 比如 Xiang 等报道的 Rho1-Cu 到 Rho4-Cu 系列探针, 他们通过配体结构优化, 让 Rho4-Cu 对 A β 42 的检测达到 24 nM 的检出限, 亲和力也很突出(Kd = 23.4 nM) [11]。一步合成方面, 基于 Mannich 反应可快速构建 Fe³⁺ 荧光探针, 操作简便、原子经济性高[24]。

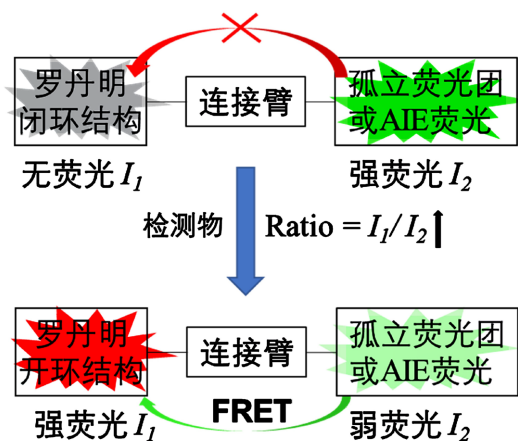


Figure 2. Schematic diagram of FRET effect signal amplification

图 2. FRET 效应信号放大示意图

在信号放大方面, FRET 是最常用的机制, 如图 2 所示。FRET 依靠供受体间距变化, 灵敏反映分子

间相互作用[25]。AIE 通过限制分子内旋转减少能量损失,在探针聚集态下荧光显著增强,可用作与独立荧光团媲美且兼具聚集引发的荧光团。有文献报道,把四苯乙烯等 AIE 单元与罗丹明 B 连接就能实现对目标部位的高选择性响应[26]。将罗丹明闭环结构与孤立荧光团或 AIE 荧光团连接时,只有孤立荧光团或 AIE 荧光团的强荧光 I_2 ,而在与检测物反应后,荧光能量可转移至罗丹明荧光团上,引发强荧光 I_1 ,从而导致 I_1/I_2 的比值发生显著变化,起到放大信号的作用。此外,连接 RGD、YIGSR 等肿瘤靶向肽段,还能增强探针在肿瘤部位的特异性富集,提升体内成像精度和信噪比[27]。

2.3. 智能响应式探针设计

智能探针设计的核心是在分子中植入特异性识别单元,使其对 pH、金属离子、酶活性及活性氧等内源性刺激产生“关-开”型荧光信号变换。几种代表性的罗丹明类荧光探针在疾病诊断中的应用如表 1 所示。针对阿尔茨海默病关键酶 BACE1, Bi 等报道了首个基于激发态分子内质子转移(ESIPT)机制的近红外荧光探针 HBAE,可在活体 AD 模型小鼠脑中定位 BACE1 表达区域,为早期诊断提供了有力的工具分子[28]。在亚硝酸盐检测中,基于罗丹明 800 骨架和 5-氨基吡啶的探针可在 3 分钟内完成响应,检测限低至 13.8 nM [29]。

Table 1. Applications of representative rhodamine-based fluorescent probes in disease diagnosis
表 1. 代表性罗丹明荧光探针在疾病诊断中的应用

探针名称	靶标	检测机制	检测限	应用场景	文献
Rho4-Cu	A β 42	金属配合物开环	24 nM	AD 小鼠活体成像	[11]
RB-CDs-PVA 水凝胶	A β	FRET 比率	0.5 pM	SH-SY5Y 细胞成像	[32]
mRA	A β 聚集体	AIE	0.12 μ g/mL	生物体液检测	[33]
Au/Rh6G/Pd@ZIF-8	MAO-B + A β o	MOF 封装/释放	—	AD 多靶点诊断	[34]
CuNCs/RhB	3-NT	双发射比率	—	血清/尿液检测	[12]
CSU-FT	ONOO ⁻	FRET 多色	11.7 nM	关节炎小鼠成像	[14]
NRho	ONOO ⁻	螺内酯开环	—	肿瘤/炎症组织识别	[40]
RhB/TFBPPY-COF@PBA	唾液酸(SA)	比率荧光	0.53 μ M	卵巢癌现场筛查	[31]
MOF-Rho 6G-DNA	EpCAM/CTCs	MOF 封装/释放	2 细胞/mL	血液 CTC 检测	[13]
YIGSR-RhB/RGD-RhB	肿瘤整合素受体	多肽靶向	—	肿瘤体内荧光成像	[27]

多模态成像组合进一步提升了诊断的准确性。荧光成像与磁共振成像(MRI)联用可在宏观与微观层面实现多尺度信息互补。Chen 等介绍了兼具磁共振和荧光成像功能的双模态探针在动物体内检测疾病相关生物活性物质的应用[30]。Ma 等以共价有机框架(COF)与罗丹明 B 构建的复合探针 RhB/TFBPPY-COF@PBA,集成了比色和荧光双重信号响应,不仅实现了对卵巢癌标志物唾液酸的高灵敏检测,还借助智能手机辅助颜色分析实现现场无仪器筛查,展示了多模态传感系统的强大的应用潜力[31]。

3. 罗丹明探针在神经退行性疾病诊断中的应用

3.1. 阿尔茨海默病中 β -淀粉样蛋白(A β)的检测

阿尔茨海默病(AD)的典型病理特征包括 β -淀粉样蛋白(A β)异常沉积和聚集,其中可溶性 A β 寡聚体被认为是早期最具神经毒性的形式。因此,对 A β 尤其是其寡聚体的高灵敏检测对 AD 早期诊断至关重要。

正如 2.2 节所述, 通过金属配位构建“关-开”型探针是罗丹明功能化的经典策略。基于此, Xiang 等利用罗丹明-铜配合物结构, 合成了探针 Rho4-Cu, 如图 3 所示, 对 A β 42 的检测限仅为 24 nM, 结合亲和常数 K_d 达到 23.4 nM, 且选择性非常出色, 并且已成功用于 AD 模型小鼠的活体荧光成像, 且可有效区分正常小鼠与 AD 小鼠[11]。在比率型荧光检测方面, Hamd-Ghadareh 等将罗丹明 B 和碳点(CDs)嵌入 PVA 三维半固体水凝胶基质, 利用 2.2 节所述的 FRET 机制实现了 A β 的比率检测。金纳米粒子(AuNPs)和 A β 共同存在时, 探针在 582 nm 和 675 nm 处的荧光强度比值(I₅₈₂/I₆₇₅)与 A β 浓度呈线性关系, 检测限低至 0.5 pM, 并在 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞中成功实现了对 A β 的高分辨率成像, 且生物相容性良好[32]。Chinnappan 等开发的三苯胺罗丹明-3-乙酸(mRA)探针则利用 2.2 中所述的聚集诱导发光机制, 对 A β 聚集体实现高亲和力检测, 检测限低至 0.12 μ g/mL, 能特异性识别寡聚体和纤维, 结构如图 3 所示。分子对接模拟表明, mRA 与 A β 肽 N/C 端区域结合能约-6.5 kcal/mol, 氢键主导了放热结合过程, 并伴随显著的二级结构变化[33]。分子对接和热力学分析为罗丹明探针的设计优化提供了更精细的分子层面指导。这种基于计算化学的理性设计, 进一步拓展了第 2.1 节中“化学修饰调节光谱”的优化维度。以 mRA 探针为例, 其与 A β 肽 N 端和 C 端区域结合表现出显著的亲和力。热力学结果显示该结合由焓变下降力驱动, 同时伴有正值熵变, 表明氢键等非共价相互作用力在结合中起主导作用, 并伴随着水分子解离的熵增效应。这一结果为指导增强探针亲和力的分子修饰策略指明了方向[33]。

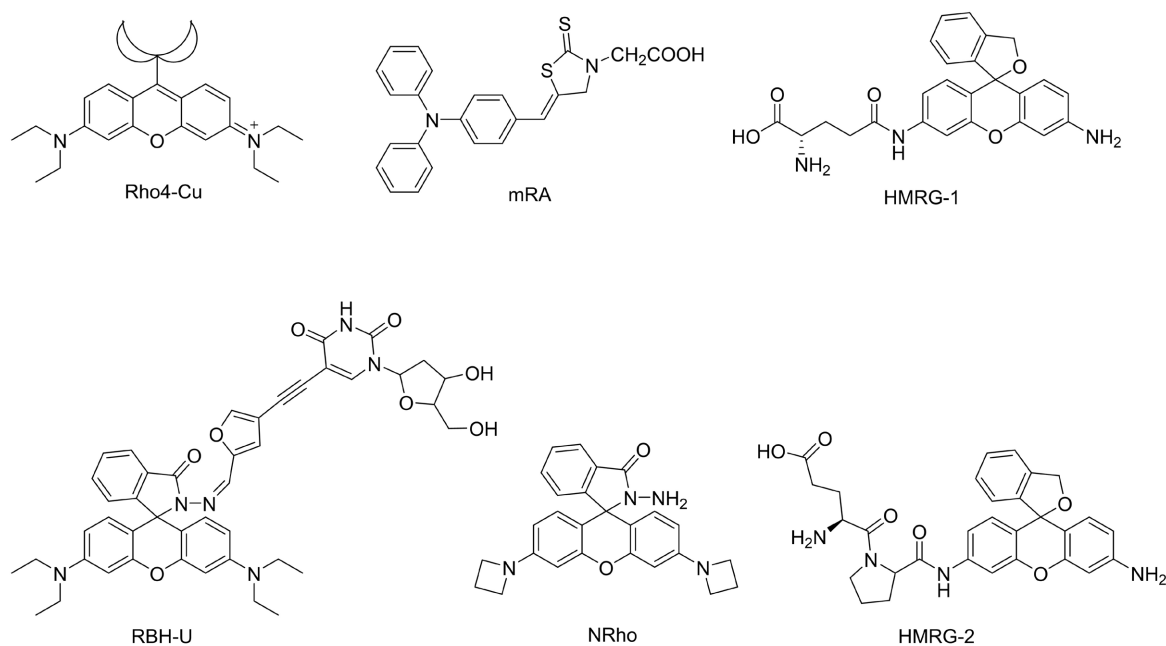


Figure 3. Molecular structures of several typical fluorescent probes

图 3. 几种典型荧光探针的分子结构

3.2. 多靶点同步检测策略

AD 的发病机制涉及多种因素的交互, 单一标志物检测常难以全面反映病理状态。Tang 等将罗丹明 6G 嵌入双金属核壳 ZIF-8 框架中, 设计了 Au/Rh6G/Pd@ZIF-8 探针。该设计融合了 2.1 和 2.2 节中所述的纳米载体封装与金属配位两种策略。实现了对单胺氧化酶 B (MAO-B)活性和 A β 寡聚体的同步检测。该探针具有类过氧化物酶活性, MAO-B 催化苯乙胺产生的 H₂O₂ 在探针催化下氧化硫胺素, 继而产生 440 nm 处的强荧光可用于 MAO-B 检测; 同时, A β 寡聚体与 ZIF-8 中 Zn²⁺ 的特异性配位可导致框架坍塌,

释放出包封的 Rh6G 实现荧光恢复可用于 A β 检测。两种靶点的荧光信号互不串扰, 为 AD 多靶点诊断提供了有效平台[34]。

4. 罗丹明探针在代谢性疾病及氧化应激监测中的应用

4.1. 糖尿病及氧化应激相关标志物的监测

糖尿病及其并发症的发生发展与高血糖诱导的氧化应激和蛋白质硝基化损伤密切相关。罗丹明探针在该领域主要应用于两方面: 细胞内微环境物理参数(如粘度)的监测和特异性氧化损伤产物(如 3-硝基酪氨酸)的检测。

在微环境物理参数监测方面, 细胞内粘度升高是糖尿病早期病理状态的重要指标之一, 这呼应了 2.2 节中 AIE 机制对分子旋转受限的论述。Sreejaya 等系统综述了粘度敏感型荧光探针在糖尿病检测中的应用, 指出罗丹明基探针主要通过扭曲分子内电荷转移(TICT)和 AIE 机制实现粘度响应: 在低粘度环境中, 分子内旋转自由, TICT 导致荧光猝灭; 高粘度环境中分子内旋转受限, TICT 被抑制, 荧光显著增强[35]。通过合理设计罗丹明分子上取代基的旋转自由度, 即可实现对糖尿病细胞模型中粘度升高的高灵敏监测。此外, 在糖尿病相关酶活性检测方面, Yamada 等利用基于羟甲基罗丹明绿(HMRG)的酶活化型探针, 结构如图 3 所示。HMRG-1 和 HMRG-2 分别靶向 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)和二肽基肽酶(DPP), 通过无创尿液荧光成像检测, 成功区分了糖尿病肾病与其他肾小球疾病, 展现了在糖尿病并发症早期筛查中的应用潜力[36]。

在氧化应激产物检测方面, 3-硝基酪氨酸(3-NT)是过氧亚硝酸盐介导蛋白质氧化损伤的特异性标志物, 其水平在 2 型糖尿病、糖尿病肾病及心血管并发症中均异常升高。Xue 等利用铜纳米簇(CuNCs)和罗丹明 B(RhB)构建了双发射比率型荧光探针: 3-NT 可通过静态猝灭和内滤效应急剧抑制 CuNCs 的荧光, 而 RhB 作为内参信号始终保持稳定, 从而实现高准确性、高稳定性的比率型检测。该探针在人体血清和尿液样本中对 3-NT 的检测表现十分优异。研究者还结合 3D 打印和智能手机成像搭建了便携式智能检测平台, 为糖尿病相关氧化应激标志物的临床快速检测提供了新的解决方案[12]。

4.2. 金属离子的荧光检测

金属离子代谢异常与多种疾病的发生发展密切相关。用于 Fe³⁺检测的罗丹明基探针普遍采用螺内酯环开环机制: 探针与 Fe³⁺未结合时无色无荧光, 与 Fe³⁺配位后开环显色并发射强烈荧光, 实现“关-开”式响应。Xu 等报道的线粒体靶向探针 RBH-U 和 Fe³⁺按 1:1 配位后荧光可增强 9 倍, 且细胞相容性良好, 可用于活细胞中 Fe³⁺的亚细胞追踪[37], 结构如图 3 所示。此外, 基于罗丹明 B 功能化壳聚糖纳米粒子的 CREN 探针以及固定于二氧化硅纳米颗粒的 MRB@SiNPs, 也在 Fe³⁺检测中展现出高灵敏度和选择性[38] [39]。

5. 罗丹明探针在肿瘤及炎症性疾病诊断中的应用

5.1. 肿瘤标志物的高灵敏检测

罗丹明类荧光探针在肿瘤标志物的检测中展现出了独特的优势。Li 等设计了刺激响应型 MOF 荧光探针 MOF-Rho 6G-DNA, 该设计正是 2.2 节中“将罗丹明与纳米载体结合”策略的生动体现。将 EpCAM 发夹 DNA 适配体修饰于 UiO-66-NH₂ 表面并将罗丹明 6G 封装其中, 探针实现了对循环肿瘤细胞(CTCs)的高效捕获与检测。EpCAM 发夹 DNA 特异性识别肿瘤细胞表面抗原后, 能够触发 Rho 6G 释放, 且荧光强度在 200~500 细胞/mL 范围内与 CTC 数量正相关, 短至 30 分钟内即可得到分析结果[13]。

在卵巢癌标志物检测方面, Ma 等利用苯硼酸与唾液酸的特异性结合, 开发了基于 RhB/TFBPPY-COF@PBA 的比率型荧光传感平台, 该工作融合了比率荧光与多模态传感的双重优势。检测平台可在 0.5~400 μ M 线性范围内实现对目标物的灵敏检测, 检测限低至 0.53 μ M。该平台还开发了智能手机辅助

色彩分析, 无需专业光学软件和仪器即可实现检测现场定量, 且兼具信息加密和防伪功能, 充分体现了多模态传感的创新设计潜力[31]。Park 等开发了双重核酸适配体修饰的罗丹明纳米传感器, 这一设计符合适配体靶向修饰的典型路径。通过骨桥蛋白诱导形成核-卫星纳米结构以增强罗丹明荧光, 30 分钟内即可实现无标记检测, 且在缓冲液中检测限低至 106.68 pM, 血清中为 463.3 pM。该平台可通过更换适配体灵活扩展至其他标志物[41]。

5.2. 炎症相关活性分子的检测与成像

过氧亚硝酸盐(ONOO⁻)是炎症反应中的关键活性氧和活性氮物种。正如 2.2 节中所描述的, FRET 是实现多色响应的有效策略, Xu 等基于 FRET 机制构建了 ONOO⁻激活的多色荧光纳米探针 CSU-FT。他们将近红外黄酮类荧光基团与罗丹明 B 共价连接后接枝到透明质酸钠上形成自组装纳米探针。该探针针对 ONOO⁻响应迅速(<20 秒), 检测限低至 11.7 nM, 并实现了在关节炎小鼠模型中炎症组织 ONOO⁻的实时动态监测[14]。Wu 等遵循第 2.1 节的螺内酯开环机制设计的罗丹明基 ONOO⁻探针 NRho, 结构如图 3 所示。NRho 合成简便, 且 5 分钟内即可区分肿瘤组织和正常组织, 并在不同类型癌细胞中检测到差异化的 ONOO⁻水平, 为肿瘤分型和炎症评估提供了新的有力工具[40]。在凝血酶活性检测方面, 研究者将罗丹明探针与表面增强拉曼散射(SERS)结合实现双模态检测。罗丹明修饰的磁性荧光纳米粒子可同时实现荧光成像的实时性和 SERS 的高分辨率, 外加磁场后还可实现靶向富集与快速分离, 为凝血酶相关疾病的诊断和抗凝药物筛选提供有力的帮助[42], 这对应了 2.3 节中多模态成像组合的思想。

5.3. 核酸及氨基酸生物标志物的检测

微 RNA(miRNA)异常表达与多种肿瘤的发生发展密切相关。Gong 等构建了 Er³⁺掺杂上转换纳米粒子(UCNPs)与罗丹明 X (ROX)的 FRET 比率型纳米探针, 该工作同时使用了 FRET 和纳米载体策略。由 miRNA-21 诱导能量转移产生比率式荧光信号变化, 检测限低至 9.95 pM, 并利用上转换发光的深组织穿透优势实现了体内可视化分析[43]。Liu 等则开发了基于 AuNPs 刻蚀释放罗丹明 6G 信号的无标记生物传感器, 用于 miRNA-155 检测, 检测限低至 2.18 fM, 检测时间仅需 30 分钟, 并且在人体血清中回收率良好[44], 这可以视为 2.3 中纳米载体释放探针策略的一种变体——通过刻蚀而非封装来实现信号释放。在氨基酸检测方面, L-半胱氨酸(L-Cys)浓度的异常与神经毒性和冠心病密切相关。Swain 等通过银纳米粒子稳定的罗丹明 B 纳米颗粒构建了“On-Off”型荧光探针, 该探针的开关机制与第 2.1 节描述的螺内酯开环机理一致。L-Cys 的巯基与银表面形成共价 Ag-S 键, 触发罗丹明 B 螺内酯环开环, 实现高选择性荧光“开启”响应, 在人体血清样本中检测性能非常优异[45]。

6. 罗丹明探针的临床转化挑战与未来展望

6.1. 生物相容性与体内稳定性

尽管罗丹明探针在实验室层面取得了丰硕成果, 但是在推向临床应用仍需克服生物相容性和体内稳定性方面的多项挑战。在复杂的生理环境中, 蛋白质、盐离子、酸碱度和温度等因素都可能导致荧光信号波动和荧光背景增加。但是研究者可以通过构建脂质体、MOF、二氧化硅纳米颗粒等纳米载体, 以及 PEG 化或多肽功能化等表面修饰, 用以改善探针的生物分布特性和半衰期, 这些策略在 2.3 节中已有系统介绍, 其临床转化的价值在此得到进一步凸显。我们认为, 未来应着重系统评估探针的体内代谢途径和长期安全性, 在保证检测性能的同时满足临床安全的要求[23] [27]。

6.2. 多模态成像与智能化发展

单一荧光成像模式在组织穿透深度和空间分辨率上存在着固有的局限, 多模态组合成为突破这一瓶

颈的重要方法。一种典型的多模态荧光/MRI 类荧光探针如图 4 所示。正如 2.3 节所述, 多模态组合是突破单一成像模式局限的有效途径, 将荧光成像与磁共振成像、光声成像、表面增强拉曼散射等技术联用, 可实现信息互补, 从宏观到微观提升诊断的深度和精度[30] [46]。

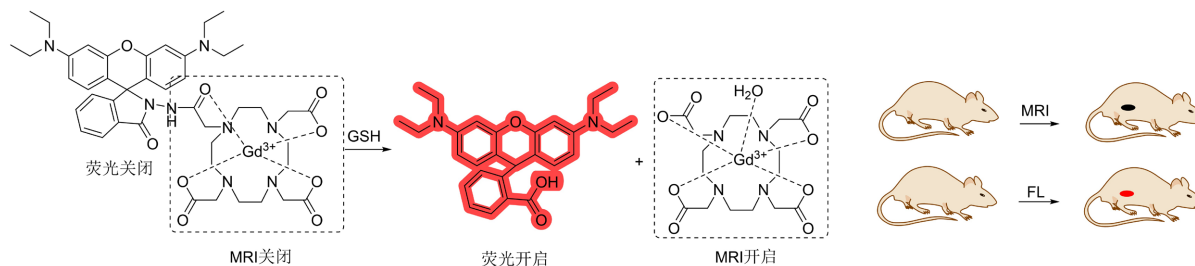


Figure 4. Schematic diagram of multimodal combination detection [30]

图 4. 多模态组合检测示意图[30]

另外, 人工智能和机器学习在探针设计中也展现出巨大潜力。Xiang 等借助机器学习理性设计 Si-罗丹明探针, 实现了对肝细胞癌组织与正常组织的精准区分, 为开发智能化探针开辟了崭新和富有前景的路径[47]。

6.3. 临床标准化与转化路径

将荧光探针进行临床转化的另一个瓶颈在于标准化。不同实验室在探针的使用条件、成像设备参数设置和数据处理方法上均可能存在差异, 这将直接影响不同实验室得到结果的可比性和可重复性, 所以建立统一的操作流程与质量控制体系是荧光探针技术可靠应用于临床的先决条件。与此同时, 便携式、自动化检测设备(如智能手机辅助荧光定量分析平台)及应用软件的开发, 为不同环境下检测现场快速筛查和资源有限环境中的检测提供可实施的方案[12] [31]。随着合成工艺标准化、检测流程标准化的建立以及多学科融合平台的开发和深化, 罗丹明荧光探针将有望真正能够在疾病早期筛查、疗效监测和个体化诊疗中发挥实际作用。

7. 结论

罗丹明类荧光探针凭借优异的光学性能与灵活的可修饰性, 已成为生物医学诊断中广受关注的分子工具。本文系统总结了罗丹明探针的设计、合成思路, 及其在阿尔茨海默病、糖尿病、肿瘤、炎症等重大疾病诊断中的应用进展。近年来, 研究者们通过金属配合物构建、纳米载体整合、FRET/AIE 信号放大、多模态成像等策略, 显著提升了探针在灵敏度、选择性与活体成像的能力, 并实现了对 $A\beta$ 、3-NT、miRNA、肿瘤标志物等关键靶点的高灵敏检测。但目前罗丹明类荧光探针的临床转化仍面临几重挑战: 生物相容性需重点关注和优化、体内稳定性有待进一步提升、深组织成像能力需要进一步开发和加强、检测体系需要制定标准化政策。未来的研究内容应在保持高性能的基础上, 进一步向多功能、智能化的方向发展, 结合 AI 辅助设计、便携式设备开发与纳米递送系统优化, 推动罗丹明探针从实验室走向临床。可以预见, 随着材料科学、纳米技术与生物医学工程的不断进步, 罗丹明类荧光探针会和其他荧光探针一道, 在精准医学时代扮演更重要的角色, 为疾病早期发现与精准干预提供助力。

基金项目

感谢锦州医科大学大学生创新创业项目(校级)《基于罗丹明荧光探针的构建及其在疾病诊断中的应用》, 项目号 202410160020, 以及辽宁省科技厅博士科研启动基金计划项目《生物硫醇近红外荧光探针

的构建及其在脑缺血再灌注损伤机制中的研究》，项目号 2024BS250，对此文章的资助。

参考文献

- [1] Chu, H., Yang, L., Yu, L., Kim, J., Zhou, J., Li, M., *et al.* (2021) Fluorescent Probes in Public Health and Public Safety. *Coordination Chemistry Reviews*, **449**, Article ID: 214208. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214208>
- [2] Huang, Y., Zhang, Y., Huo, F., Chao, J., Cheng, F. and Yin, C. (2020) A New Strategy: Distinguishable Multi-Substance Detection, Multiple Pathway Tracing Based on a New Site Constructed by the Reaction Process and Its Tumor Targeting. *Journal of the American Chemical Society*, **142**, 18706-18714. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c10210>
- [3] Dai, F., Zhao, M., Yang, F., Wang, T. and Wang, C. (2020) An ESIPT Coupled AIE Fluorescent Probe for Biothiols Detection and Imaging Based on a Chalcone Fluorophore. *Dyes and Pigments*, **183**, Article ID: 108627. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108627>
- [4] Wu, J., Xia, W., Lu, Y., Yao, S., Chen, Y. and Guo, Z. (2024) Construction of a Dual “Off-On” Near-Infrared Fluorescent Probe for Bioimaging of HClO in Rheumatoid Arthritis. *Talanta*, **280**, Article ID: 126721. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126721>
- [5] Li, H., Kim, H., Xu, F., Han, J., Yao, Q., Wang, J., *et al.* (2022) Activity-Based NIR Fluorescent Probes Based on the Versatile Hemicyanine Scaffold: Design Strategy, Biomedical Applications, and Outlook. *Chemical Society Reviews*, **51**, 1795-1835. <https://doi.org/10.1039/d1cs00307k>
- [6] Liu, Y., Xiang, K., Tian, B. and Zhang, J. (2017) Rhodol-Based Far-Red Fluorescent Probe for the Detection of Cysteine and Homocysteine over Glutathione. *Luminescence*, **32**, 78-85. <https://doi.org/10.1002/bio.3152>
- [7] Cao, Y., Guo, M., Liu, X., Wang, B., Jiao, Q. and Zhu, H. (2022) A Highly Chromogenic Selective Rhodamine-Chloride-Based Fluorescence Probe Activated by Cysteine and Application in Living Cells and Zebrafish. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **283**, Article ID: 121635. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121635>
- [8] Ghosh, P. and Roy, P. (2023) Structure-Metal Ion Selectivity of Rhodamine-Based Chemosensors. *Chemical Communications*, **59**, 5174-5200. <https://doi.org/10.1039/d3cc00651d>
- [9] Deng, F., Liu, L., Huang, W., Huang, C., Qiao, Q. and Xu, Z. (2020) Systematic Study of Synthesizing Various Heteroatom-Substituted Rhodamines from Diaryl Ether Analogues. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **240**, Article ID: 118466. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118466>
- [10] Fang, X., Qiao, Q., Li, Z., Li, H., Huang, Y., Hou, D., *et al.* (2025) Ether Rhodamines with Enhanced Hydrophilicity, Fluorogenicity, and Brightness for Super-Resolution Imaging. *Journal of the American Chemical Society*, **147**, 22253-22267. <https://doi.org/10.1021/jacs.5c08833>
- [11] Xiang, J., Xiang, C., Zhou, L., Sun, M., Feng, L., Liu, C., *et al.* (2022) Rational Design, Synthesis of Fluorescence Probes for Quantitative Detection of Amyloid- β in Alzheimer's Disease Based on Rhodamine-Metal Complex. *Analytical Chemistry*, **94**, 11791-11797. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c01911>
- [12] Xue, J., Liu, J., Zhu, R., Ma, J., Wang, H. and Jia, Q. (2025) Development of Ratiometric Fluorescent Probe Based on Copper Nanoclusters and Rhodamine B for the Detection of 3-Nitrotyrosine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **336**, Article ID: 126035. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2025.126035>
- [13] Li, C., Feng, X., Yang, S., Xu, H., Yin, X. and Yu, Y. (2021) Capture, Detection, and Simultaneous Identification of Rare Circulating Tumor Cells Based on a Rhodamine 6G-Loaded Metal-Organic Framework. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **13**, 52406-52416. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c15838>
- [14] Xu, W., Tan, L., Zeng, J., Yang, Q., Zhou, Y. and Zhou, L. (2022) Molecular Engineering for Construction of a Novel ONOO⁻-Activated Multicolor Fluorescent Nanoprobe for Early Diagnosis and Assessing Treatment of Arthritis *in Vivo*. *Biosensors and Bioelectronics*, **209**, Article ID: 114242. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114242>
- [15] Zhang, Y., Xia, S., Wan, S., Steenwinkel, T.E., Vohs, T., Luck, R.L., *et al.* (2021) Ratiometric Detection of Glutathione Based on Disulfide Linkage Rupture between a FRET Coumarin Donor and a Rhodamine Acceptor. *ChemBioChem*, **22**, 2282-2291. <https://doi.org/10.1002/cbic.202100108>
- [16] Bai, Y., Wu, M., Ma, Q., Wang, C., Sun, J., Tian, M., *et al.* (2019) A FRET-Based Ratiometric Fluorescent Probe for Highly Selective Detection of Cysteine Based on a Coumarin-Rhodol Derivative. *New Journal of Chemistry*, **43**, 14763-14771. <https://doi.org/10.1039/c9nj03375k>
- [17] Tong, L. and Qian, Y. (2018) A NIR Rhodamine Fluorescent Chemodosimeter Specific for Glutathione: Knoevenagel Condensation, Detection of Intracellular Glutathione and Living Cell Imaging. *Journal of Materials Chemistry B*, **6**, 1791-1798. <https://doi.org/10.1039/c7tb03199h>
- [18] Liu, J., Zhao, X., Zhang, L., Zhou, H., Li, X., Zheng, G., *et al.* (2026) A FRET-Based Ratiometric Fluorescent Chemosensor for Mitochondrial ONOO⁻ Detection with Application to Rheumatoid Arthritis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **451**, Article ID: 139326. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2025.139326>

- [19] Guo, H., Yang, K., Fan, X., Chen, M., Ke, G., Ren, T., *et al.* (2023) Designing a Brightness-Restored Rhodamine Derivative by the Ortho-Compensation Effect for Assessing Drug-Induced Acute Kidney Injury. *Analytical Chemistry*, **95**, 6863-6870. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c05699>
- [20] Sun, D., Yang, S., Ma, J., Liu, C., Sun, J., Li, Y., *et al.* (2022) A General Approach to S-Rhodamines from Diaryl Thioethers and Their Application in Constructing pH Probes. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **20**, 5694-5698. <https://doi.org/10.1039/d2ob01086k>
- [21] Vaidya, S., Sharma, M., Brückner, C. and Kasi, R.M. (2025) Hierarchically Structured Stimuli-Responsive Liquid Crystalline Terpolymer-Rhodamine Dye Conjugates. *Molecules*, **30**, Article 401. <https://doi.org/10.3390/molecules30020401>
- [22] Tian, M., Ge, E., Dong, B., Zuo, Y., Zhao, Y. and Lin, W. (2021) Intramolecular Spirocyclization Enables Design of a Single Fluorescent Probe for Monitoring the Interplay between Mitochondria and Lipid Droplets. *Analytical Chemistry*, **93**, 3602-3610. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c05259>
- [23] Bucevičius, J., Gerasimaitė, R., Kiszka, K.A., Pradhan, S., Kostiuk, G., Koenen, T., *et al.* (2023) A General Highly Efficient Synthesis of Biocompatible Rhodamine Dyes and Probes for Live-Cell Multicolor Nanoscopy. *Nature Communications*, **14**, Article No. 1306. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36913-2>
- [24] Zhang, M., Shen, C., Jia, T., Qiu, J., Zhu, H. and Gao, Y. (2020) One-Step Synthesis of Rhodamine-Based Fe³⁺ Fluorescent Probes via Mannich Reaction and Its Application in Living Cell Imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **231**, Article ID: 118105. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118105>
- [25] Gheitarani, B., Golshan, M., Hosseini, M.S. and Salami-Kalajahi, M. (2022) Reflectance and Photophysical Properties of Rhodamine 6G/2-(4-Methyl-2-Oxo-2H-Chromen-7-Yloxy) Acetic Acid as Cold Hybrid Colorant. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 6145. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10001-9>
- [26] Hu, D., Wei, G., Yang, P., Fu, D. and Li, K. (2025) An AIE Fluorescence Probe for Ratiometric and Selective Detection of Sn²⁺ Based on Proton Transfer. *Talanta*, **293**, Article ID: 128078. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2025.128078>
- [27] Liu, F., Yan, J., Chen, S., Yan, G., Pan, B., Zhang, Q., *et al.* (2020) Polypeptide-Rhodamine B Probes Containing Laminin/Fibronectin Receptor-Targeting Sequence (YIGSR/RGD) for Fluorescent Imaging in Cancers. *Talanta*, **212**, Article ID: 120718. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120718>
- [28] Bi, A., Wu, J., Huang, S., Li, Y., Zheng, F., Ding, J., *et al.* (2022) Functional Insights from Targeted Imaging BACE1: The First Near-Infrared Fluorescent Probe for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Biomaterials Research*, **26**, Article No. 76. <https://doi.org/10.1186/s40824-022-00320-3>
- [29] Yang, T., Sun, Y., Zeng, H., Yang, R., Tao, J., Zhao, L., *et al.* (2024) Rapid, Portable and Visualizing Nitrite Detection Enabled by a Rationally Designed Meso-Aminoindole Substituted Pyronine-Based Fluorescent Probe. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **319**, Article ID: 124566. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2024.124566>
- [30] Chen, S., Huang, J., Zhou, J., Wang, Y., Jia, H., Meng, Q., *et al.* (2026) *In Vivo* Dual-Modal Imaging of Glutathione with a Rhodamine-Gd(III) Based Fluorescent/magnetic Resonance Probe. *Analytica Chimica Acta*, **1401**, Article ID: 345390. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2026.345390>
- [31] Ma, Y., Wei, Y., Guo, H., Hui, Y., Peng, L., Zhuang, D., *et al.* (2025) Multimodal Sensing System Based on Phenylboric Acid-COF/RhB Ratio Fluorescence: Highly Sensitive Detection of Ovarian Cancer Biomarker, Smartphone-Assisted Field Analysis and Information Encryption and Anti-Counterfeiting Integration. *Microchimica Acta*, **192**, Article No. 552. <https://doi.org/10.1007/s00604-025-07403-7>
- [32] Hamd-Ghadareh, S., Salimi, A., Parsa, S. and Mowla, S.J. (2022) Development of Three-Dimensional Semi-Solid Hydrogel Matrices for Ratiometric Fluorescence Sensing of Amyloid β Peptide and Imaging in SH-SY5 Cells: Improvement of Point of Care Diagnosis of Alzheimer's Disease Biomarker. *Biosensors and Bioelectronics*, **199**, Article ID: 113895. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113895>
- [33] Chinnappan, R., Khan, M.A., Mohammad, T., Allwaibh, S.M., Easwaramoorthi, S., Yaqinuddin, A., *et al.* (2025) A Novel Fluorescent Probe, Triphenylamine Rhodamine-3-Acetic Acid (mRA) for the Detection of Amyloid- β Aggregates in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, **19**, Article 1653063. <https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1653063>
- [34] Tang, Y., Xiao, M., Duo, T., Zhang, X., Chen, Z. and Wei, W. (2025) Simultaneous Detection of MAO-B and Soluble A β Oligomers Based on a Bimetallic Loaded ZIF-8 Core-Shell Probe. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **17**, 36478-36486. <https://doi.org/10.1021/acsami.5c06476>
- [35] Sreejaya, M.M., M Pillai, V., A, A., Baby, M., Bera, M. and Gangopadhyay, M. (2024) Mechanistic Analysis of Viscosity-Sensitive Fluorescent Probes for Applications in Diabetes Detection. *Journal of Materials Chemistry B*, **12**, 2917-2937. <https://doi.org/10.1039/d3tb02697c>
- [36] Yamada, K., Takata, T., Iyama, T., Hamada, S., Mae, Y., Sugihara, T., *et al.* (2022) Fluorescence Imaging Using Enzyme-Activatable Probes for Detecting Diabetic Kidney Disease and Glomerular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 8150. <https://doi.org/10.3390/ijms23158150>

- [37] Xu, W., Ahmed, F. and Xiong, H. (2023) A Mitochondria-Targeted Fluorescent Probe Based on Biocompatible RBH-U for the Enhanced Response of Fe^{3+} in Living Cells and Quenching of Cu^{2+} *in Vitro*. *Analytica Chimica Acta*, **1249**, Article ID: 340925. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.340925>
- [38] Liu, Z., Li, N., Liu, P., Qin, Z. and Jiao, T. (2022) Highly Sensitive Detection of Iron Ions in Aqueous Solutions Using Fluorescent Chitosan Nanoparticles Functionalized by Rhodamine B. *ACS Omega*, **7**, 5570-5577. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c07071>
- [39] Islam, M.F., Elbayomi, S.M., Abdulkadir, A.Z., Luo, Y., Liu, J., Cai, L., *et al.* (2025) Modified Rhodamine B Immobilized on Silica Nanoparticles (MRB@SiNPs) as a Fluorescent Probe for Selective Metal Ion Detection. *Luminescence*, **40**, e70216. <https://doi.org/10.1002/bio.70216>
- [40] Wu, G., Li, Z., Huang, P. and Lin, W. (2024) Shedding Light on ONOO^- Detection: The Emergence of a Fast-Response Fluorescent Probe for Biological Systems. *Journal of Materials Chemistry B*, **12**, 3436-3444. <https://doi.org/10.1039/d3tb02994h>
- [41] Park, J. and Ban, C. (2023) Development of a One-Shot Dual Aptamer-Based Fluorescence Nanosensor for Rapid, Sensitive, and Label-Free Detection of Periostin. *Scientific Reports*, **13**, Article No. 10224. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37418-0>
- [42] Jedináková, P., Barbušćáková, Z., Miličević, D., Kubala, M. and Hlaváč, J. (2025) A New Multi-Purpose FRET Fluorescent Probe for the Simultaneous Detection of Proteases. *RSC Advances*, **15**, 34821-34832. <https://doi.org/10.1039/d5ra03163j>
- [43] Gong, Y., Yuan, W., Song, F., Zhang, Q., Zhang, P. and Ding, C. (2022) A NIR Light Gated Targeting Nanoprobe Based on DNA-Modified Upconversion Nanoparticles with Antifouling Properties for Ratiometric Detection and Imaging of MicroRNA-21. *Analytica Chimica Acta*, **1235**, Article ID: 340554. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340554>
- [44] Liu, X., Wang, Q., Diao, Z., Huo, D. and Hou, C. (2024) Label-Free Fluorescent Biosensor Based on AuNPs Etching Releasing Signal for miRNA-155 Detection. *Talanta*, **278**, Article ID: 126481. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126481>
- [45] Swain, S., Patra, S., Panigrahi, S., Biswal, A., Mohapatra, P. and Swain, S.K. (2025) Rhodamine B Embedded Silver Nanoparticles for Selective Sensing of L-Cysteine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **330**, Article ID: 125722. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2025.125722>
- [46] Gong, T., Ullah, Z., Roy, S., Cheng, C., Li, M., Cheng, J., *et al.* (2025) Implication of Bimodal Magnetic Resonance and Fluorescence Imaging Probes in Advanced Healthcare: Enhancing Disease Diagnosis and Targeted Therapy. *International Journal of Nanomedicine*, **20**, 9473-9503. <https://doi.org/10.2147/ijn.s524454>
- [47] Xiang, F., Zhang, H., Wu, Y., Chen, Y., Liu, Y., Chen, S., *et al.* (2024) Machine-Learning-Assisted Rational Design of Si-Rhodamine as Cathepsin-pH-Activated Probe for Accurate Fluorescence Navigation. *Advanced Materials*, **36**, Article ID: 2404828. <https://doi.org/10.1002/adma.202404828>