水溶性罗丹明基 Fe^{3+} 荧光探针及其在细胞成像中的应用高 勇^{*,a,b} 汪 军^a 付 妹^a 陈宏伟^a 方明章^a^(a) 福建师范大学化学与化工学院 福州 350007)^(b) 福建师范大学 福建省先进材料化工基础重点实验室 福州 350007)

摘要 通过引入亲水性羧基,设计合成了一种水溶性罗丹明基荧光探针 **T1**,其结构通过氢谱、碳谱、高分辨质谱等方法进行了表征.探针 **T1** 通过显著的荧光增强来识别 Fe^{3+} ,并且有良好的选择性和抗干扰能力.该探针水溶性良好,可以在 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, pH=7.4) 的体系中使用.细胞成像实验显示该探针具有良好的细胞膜渗透能力,有可能用于生物细胞内 Fe^{3+} 的检测.

关键词 罗丹明;水溶性; Fe^{3+} ;荧光探针;细胞成像

A Water-Soluble Rhodamine-Based Fluorescent Probe for Fe^{3+} and Its Application in Live Cell ImagingGao, Yong^{*,a,b} Wang, Jun^a Fu, Mei^a Chen, Hongwei^a Fang, Mingzhang^a^(a) College of Chemistry and Chemical Engineering, Fujian Normal University, Fuzhou 350007)^(b) Fujian Provincial Key Laboratory of Advanced Materials Oriented Chemical Engineering, Fujian Normal University, Fuzhou 350007)

Abstract A rhodamine-based water-soluble fluorescent probe of Fe^{3+} (**T1**) was designed and synthesized, in which a carboxy was linked to enhance its water solubility. Its structure was characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS-ESI. The fluorescent probe showed remarkable “turn-on” fluorescent responses to Fe^{3+} with good selectivity over other competitive cations. It has a good water solubility that the recognition properties of the probe with Fe^{3+} ions can be investigated in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, pH=7.4). The fluorescence imaging experiments of Fe^{3+} in MCF-7 living cells demonstrated that the probe had a good cell-membrane permeability and it could be used in biological systems.

Keywords rhodamine; water solubility; Fe^{3+} ; fluorescent probe; live cell imaging

铁是生命体中重要的微量元素,广泛地参与多种生命过程,如细胞代谢^[1]、氧代谢、质子转移、酶催化^[2~4]、DNA 和 RNA 的合成等^[5,6].铁在人体细胞的生长和发育过程中起着至关重要的作用,细胞内铁的缺失会导致贫血症、糖尿病、心脏病以及肾脏、大脑和肝脏的损伤^[7].哺乳动物细胞中的铁是以二价和三价两种状态存在的^[8],鉴于细胞质属于还原性环境, Fe^{2+} 是主要存在形式,占总铁量的 80%~90%^[9], Fe^{3+} 虽然在细胞中含量较低,但是其生理功能与 Fe^{2+} 同样重要.一方面 Fe^{3+} 与 Fe^{2+} 的氧化还原反应是多种生理过程的重要步骤^[10],另一方面,研究表明许多神经变性疾病,诸如帕金森氏症、阿兹海默病与 Fe^{3+} 浓度异常直接相关^[11,12],

因此准确检测细胞内 Fe^{3+} 的浓度和分布具有重要意义.

常用检测 Fe^{3+} 的方法有原子吸收光谱法^[13]、比色法^[14]、分光光度法^[15~17]和电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)^[18]等.虽然这些方法能够实现定量检测,但所需装置昂贵,检测过程复杂,而且对生物样品具有破坏性,无法实现生物活体检测.荧光探针法是 Fe^{3+} 通过络合或化学反应与荧光探针发生作用,诱导荧光基团发生结构变化,进而产生荧光信号响应的分析方法.该方法具有灵敏度高、专一性强、无损伤、快速等优点,在识别 Fe^{3+} ,进而反映生命体内部信息方面具有独特的优势,与荧光显微镜配合还能实现被检测对象的可视化实时检测^[19].因此近年来对于 Fe^{3+} 荧光探针的研

* Corresponding author. E-mail: gaoyong77@126.com

Received October 11, 2016; revised December 15, 2016; published online December 21, 2016.

Project supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2013H0019).

福建省自然科学基金重点(No. 2013H0019)资助项目.

究引起的广泛的关注。

罗丹明具有优异的光物理性质和多种修饰途径^[20~23], 在金属离子诱导下会出现内酰胺(无荧光)和开环酰胺结构(荧光)之间的转化, 这些特质使其成为构建 off-on 型金属离子荧光探针的理想平台^[24]. 利用罗丹明衍生物设计荧光探针用于检测生命体中的 Fe^{3+} 是一种简单、高效和经济的方法^[25]. 尽管对 Fe^{3+} 具有高灵敏性和选择性的罗丹明基荧光探针已被大量报道, 但大多数罗丹明基荧光探针的水溶性较差, 无法在水相或含水量大的体系中工作, 这已成为制约该类探针在生物领域应用的瓶颈^[26].

本课题组在对罗丹明基荧光染料研究的基础上^[27], 曾经设计合成了一个带有亲水性醚链的水溶性罗丹明基 Fe^{3+} 荧光探针^[28]. 该研究表明在探针结构中引入亲水性基团是改善探针水溶性的有效手段. 但进一步研究显示, 应用该方法时有两个问题需要注意. 其一, 细胞体系是含有质膜系统的水相体系, 探针要发挥作用不但要有良好的水溶性还要具备一定的脂溶性, 以便穿过细胞膜. 探针的水溶性并不是越强越好, 若其极性太强而可能无法穿过细胞膜. 探针的水溶性与脂溶性是辩证的统一, 必须要找到探针水溶性与脂溶性之间的平衡点. 其二, 亲水性基团一般都含有 N、O、S 等可以与金属离子配位的原子, 如何巧妙地引入亲水基团而不干扰探针识别基团的工作, 保证探针的选择性和灵敏度, 是一个必须要解决的问题.

本文在文献报道的一种性能良好的罗丹明基 Fe^{3+} 荧光探针 **T**^[29] 的基础上, 在恰当的位置引入亲水性基团羧基, 设计了一个脂溶性与水溶性平衡的且不影响离子选择性的新型探针 **T1**. 该探针通过罗丹明 **B** 酰肼与 1,2,4-苯三酸酐反应合成. 探针 **T1** 通过引入一个亲水性羧基, 使其可以在 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 的缓冲体系中, 实现对 Fe^{3+} 的选择性识别. 与探针 **T** 相比, 其合成步骤并未增加, 但是水溶性有了明显的提高. 探针 **T1** 的合成路线及探针 **T** 的结构如 Scheme 1 所示.

1 结果与讨论

1.1 pH 对探针 **T1** 荧光光谱的影响

罗丹明基荧光探针对于环境的 pH 值比较敏感, 因此探究探针在不同 pH 值下的荧光发射光谱, 可以确定探针适用的 pH 范围. 图 1 是探针 **T1** 在 $\text{pH}=2.8\sim 12.4$ 范围内的荧光发射光谱. 如图所示, 探针 **T1** 在 $\text{pH}\leq 5.3$ 的酸性环境下, 583 nm 处出现荧光, 溶液由无色变为红色, 这说明该探针处于开环状态. 探针 **T1** 在 $\text{pH}=3.7$ 时荧光强度达到了最大. 当 $\text{pH}\geq 5.3$ 时, 探针 **T1** 在

图式 1 探针 **T1** 的合成路线和探针 **T** 的结构

Scheme 1 Synthetic route of probe **T1** and the structure of probe **T**

图 1 不同 pH 值下探针 **T1** ($50\ \mu\text{mol/L}$) 的荧光发射光谱($\lambda_{\text{ex}}=520\ \text{nm}$)

Figure 1 Fluorescent emission spectra of probe **T1** ($50\ \mu\text{mol/L}$) under different pH values ($\lambda_{\text{ex}}=520\ \text{nm}$)

500~600 nm 间无明显的荧光. 考虑到探针最终将用于细胞体系的测试, 以下实验均选择在 $\text{pH}=7.4$ 的 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$) 中进行.

1.2 探针 T1 对 Fe^{3+} 的选择性

选择性是探针性能的一个重要参数,在实际应用中能够对识别对象进行高选择性识别对探针至关重要.在 T1 浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 体系中,分别加入 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 等阳离子.紫外-可见光谱测试如图 2 所示,探针 T1 在 Fe^{3+} 存在时产生明显的可见光谱吸收,同时 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 有一定的干扰.

图 2 T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) 的 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液对 100 $\mu\text{mol/L}$ 不同离子的紫外可见吸收光谱

Figure 2 UV-Vis absorption spectra of T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution with the addition of 100 $\mu\text{mol/L}$ different ions

荧光光谱测试如图 3 所示,探针 T1 中加入铁离子溶液以后,在 586 nm 处出现一个强烈的荧光发射带.探针 T1 仅对 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 有一定响应,而对 Cu^{2+} 则没有明显的响应.此结果表明,探针 T1 在上述缓冲体系对 Fe^{3+} 有良好的选择性,可以通过荧光光谱的变化来实现

图 3 T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) 的 DMF/ H_2O ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液对 100 $\mu\text{mol/L}$ 不同离子的荧光发射光谱($\lambda_{\text{ex}}=520\text{ nm}$)

Figure 3 Fluorescent emission spectra of T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution with the addition of 100 $\mu\text{mol/L}$ different ions ($\lambda_{\text{ex}}=520\text{ nm}$)

对 Fe^{3+} 的检测.

为了进一步探究探针 T1 对 Fe^{3+} 的选择的抗干扰性,在 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 T1 的 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液中,分别加入一定量的 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} . 0.5 h 之后进行荧光检测,仅 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 两样品溶液呈现弱荧光.在各个溶液中加入 Fe^{3+} 后,溶液产生强烈的荧光.如图 4 所示,共存离子对 T1 识别 Fe^{3+} 未产生明显的干扰,这表明在干扰离子存在下,探针 T1 对 Fe^{3+} 有良好的选择性.

图 4 其它金属离子(100 $\mu\text{mol/L}$)和 Fe^{3+} (100 $\mu\text{mol/L}$)共存时探针 T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) 荧光发射光谱的变化($\lambda_{\text{ex}}=520\text{ nm}$)

Figure 4 Fluorescent emission spectra of probe T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution with the addition of 100 $\mu\text{mol/L}$ Fe^{3+} and 100 $\mu\text{mol/L}$ competing ions ($\lambda_{\text{ex}}=520\text{ nm}$)

1.3 紫外和荧光滴定

紫外光谱滴定如图 5 所示,随着 Fe^{3+} 浓度的增加,

图 5 探针 T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) 与不同浓度的 Fe^{3+} (0~240 $\mu\text{mol/L}$) 在 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液中的紫外可见吸收光谱

Figure 5 UV-Vis absorption spectra of different concentrations of Fe^{3+} (0~240 $\mu\text{mol/L}$) and T1 (50 $\mu\text{mol/L}$) in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution

在 562 nm 处出现了一个新的吸收带, 其吸光度达到最大时强度大约增大了 250 倍. 荧光光谱滴定如图 6 所示, 当加入 Fe^{3+} 之后在 586 nm 处出现了荧光发射带, 随着 Fe^{3+} 浓度的增加, 荧光强度逐渐增大. 当 Fe^{3+} 超过 200 $\mu\text{mol/L}$, 荧光强度基本不再增加, 紫外滴定实验也是类似情况, 此现象与 Li 的研究一致^[30]. 如 **T1** 的荧光强度随 Fe^{3+} 浓度变化的线性关系图(图 6 内插图)所示, Fe^{3+} 浓度与荧光强度在 80~130 $\mu\text{mol/L}$ 区间呈现良好的线性关系($R^2=0.98886$). 由公式 $\text{DL}=(3S_{b1}-I)/S$ 求得^[31], Fe^{3+} 的检测限为 2.4 $\mu\text{mol/L}$, 这表明在此工作条件下探针 **T1** 对 Fe^{3+} 有较高的灵敏度.

图6 探针 **T1** (50 $\mu\text{mol/L}$) 与不同浓度的 Fe^{3+} (0~240 $\mu\text{mol/L}$) 在 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液中的荧光发射光谱($\lambda_{\text{ex}}=520\text{ nm}$)

Figure 6 The Fluorescent emission spectra of different concentrations of Fe^{3+} (0~240 $\mu\text{mol/L}$) and **T1** (50 $\mu\text{mol/L}$) in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution ($\lambda_{\text{ex}}=520\text{ nm}$)

1.4 探针与 Fe^{3+} 的络合方式

为了确定探针化合物 **T1** 和 Fe^{3+} 之间的络合比, 绘制了探针 **T1** 与 Fe^{3+} 的 Job-plot 工作曲线. 固定探针 **T1** 与 Fe^{3+} 的总浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 依次调节探针与 Fe^{3+} 离子的浓度比分别为 10:0、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9, 测试探针 **T1** 在不同的比例中, 562 nm 处的吸光度值. 如图 7 所示, 当探针 **T1** 的摩尔分数达 0.5 时, 出现了最大吸光度值, 这表明 **T1** 与 Fe^{3+} 之间的络和比为 1:1.

1.5 探针对 Fe^{3+} 的可逆性测试

乙二胺四乙酸 (EDTA) 作为掩蔽剂常被用于研究探针与金属离子配位过程的可逆性. 如图 8 所示, 固定探针的浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$, 加入 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Fe^{3+} 溶液, 荧光强度增加, 显示探针对 Fe^{3+} 响应. 继续加入 100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA 溶液, 荧光强度减弱, 此现象表明 EDTA 会引起探针 **T1** 的 on-off 响应, 这是由于 EDTA 夺走了 **T1**- Fe^{3+} 络合物中的 Fe^{3+} 所致. 再加入了 100 $\mu\text{mol/L}$ 的

图7 探针 **T1** 在 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液中对 Fe^{3+} 的 Job-plot 曲线

Figure 7 Job-plot of **T1** for Fe^{3+} in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution

图8 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 溶液中 EDTA 浓度对 **T1**+ Fe^{3+} 的荧光强度影响

Figure 8 Fluorescence intensity of **T1**+ Fe^{3+} as a function of EDTA concentration in DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) solution

Fe^{3+} 溶液后, 荧光强度又恢复, 这表明探针 **T1** 有良好的可逆性.

1.6 探针 **T1** 对 Fe^{3+} 识别机理初探

通过可逆性的实验证实探针与 Fe^{3+} 是属于可逆型识别, 其识别机理可能为配位型. 由 Job-plot 曲线可知, 探针 **T1** 与 Fe^{3+} 的络合比为 1:1. 对 **T1** 与 Fe^{3+} 形成的络合物进行高分辨质谱检测发现 m/z : 757.4334 [calcd 757.4396], 对应的结构可能为 $[\text{T1}+\text{Fe}^{3+}+2\text{Cl}]^+$, 进一步证明 **T1** 与 Fe^{3+} 形成了 1:1 络合物. 根据文献^[29]其可能的反应机理如 Eq. 1 所示.

1.7 细胞显微成像实验

在 MCF-7 的培养皿中加入 20 $\mu\text{mol/L}$ 的探针, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 及 5% CO_2 条件下, 孵育 30 min. 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗培养皿 3 遍后, 加入 10 $\mu\text{mol/L}$ Fe^{3+} , 再孵育 30 min, 在共聚焦荧光显微镜下观察(图 9a~c). 对照组为未加 Fe^{3+} 的细胞(图 9d, e, f).

图9 探针 **T1** 在 MCF-7 细胞中对 Fe^{3+} 的识别成像

Figure 9 Fluorescence images of Fe^{3+} in MCF-7 cells

Bright-field transmission image (a, d) and fluorescence image (b, e) of MCF-7 cells incubated with $20\ \mu\text{mol/L}$ **T1** and then 10 or $0\ \mu\text{mol/L}$ Fe^{3+} for $30\ \text{min}$, respectively. Image c is the overlay image of (a) and (b). Image f is the overlay image of (d) and (e) ($\lambda_{\text{ex}}=559\ \text{nm}$)

当 **T1** 和 Fe^{3+} 共同孵育细胞时, 细胞内有明显的荧光出现(图 9b), 仅有 **T1** 存在时细胞内无荧光(图 9e), 表明在细胞中探针 **T1** 对 Fe^{3+} 有选择性响应. 从亮场与荧光的叠加图(图 9c)可见荧光信号处于细胞质区域, 说明该探针具有良好的细胞膜渗透能力. 细胞显微成像实验显示该探针有可能用于生物细胞内 Fe^{3+} 的检测.

2 结论

设计合成了一种亲水性罗丹明基荧光探针 **T1**, 其结构通过氢谱、碳谱、质谱等方法进行了表征. 利用紫外-可见光谱和荧光光谱研究了探针的识别性能, 研究结果表明, 探针 **T1** 可以通过显著的荧光增强来识别 Fe^{3+} , 并且有良好的选择性和抗干扰能力. 特别需要说明的是, 由于在探针中引入了亲水性羧基, 该探针可以在 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 的体系中进行测试, 而对照探针 **T** 是在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Tris-HCl}$ ($V:V=1:9$, $\text{pH}=7.4$) 体系中测试^[29], 可见 **T1** 的水溶性比 **T** 有了很大的提高. 细胞影像研究显示探针 **T1** 对细胞膜具有良好的透过性, 有可能用于细胞内 Fe^{3+} 的检测.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

核磁共振仪: UNITYINOVA 400 (CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标); 高分辨质谱: Bruker microTOF-QII ESI-MS; 荧光分光光度计: Shimadzu RF-5310PC; 紫外可见分光光度计: Shimadzu UV-1750; 共聚焦荧光显微镜: Olympus FV1000-IX81. 所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水. 探针 **T1** 储备液: 准确称取一定量的探针溶于 DMF 中, 配成浓度成 $5 \times 10^{-4}\ \text{mol/L}$ 的 $50\ \text{mL}$ 的储备液. 金属阳离子储备液: 准确地称取一定量的金属离子盐, 用二次蒸馏水溶解, 配成 $1 \times 10^{-3}\ \text{mol/L}$ 的 $100\ \text{mL}$ 金属离子储备液, 使用时根据需要适当稀释. 实验中用到的阳离子为它们的硝酸盐或氯化盐.

3.2 实验方法

3.2.1 探针 **T1** 的合成和结构表征

罗丹明水合肼参考文献[32]合成. 在 $100\ \text{mL}$ 三口瓶中加入 $0.1175\ \text{g}$ ($0.26\ \text{mmol}$) 罗丹明水合肼和 $20\ \text{mL}$ 的甲苯, 加热至回流, 再加入用 $10\ \text{mL}$ N,N -二甲基甲酰胺 (DMF) 溶解的 $0.0641\ \text{g}$ ($0.33\ \text{mmol}$) 1,2,4-苯三酸酐, 反

应 12 h. 待产物冷却至室温后, 减压除去溶剂, 残余物用中性氧化铝柱层析 ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:100$) 得到产品 0.0798 g, 产率为 49.17%. ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ : 8.39 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.98 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.74~7.67 (m, 2H), 7.25 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.39 (s, 2H), 6.26 (s, 2H), 3.33~3.31 (m, 8H), 1.11 (t, $J=6.0$ Hz, 12H); ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ : 166.2, 165.2, 163.1, 154.1, 150.8, 149.1, 137.8, 135.7, 134.06, 132.4, 130.2, 129.7, 128.4, 127.9, 124.6, 124.0, 123.5, 122.9, 108.0, 104.1, 97.2, 44.0, 11.4. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6$ [$\text{M}+\text{H}^+$] 631.6972, found 631.6961.

3.2.2 探针光谱测定

向一系列 10 mL 容量瓶中, 加适量探针 **T1** 储备液和一定体积的金属离子储备液, 用 DMF/Tris-HCl ($V:V=1:9$, pH=7.4) 缓冲溶液稀释定容, 摇匀并放置 3 min, 取 3 mL 样品液于比色皿中(石英比色皿厚度为 1 cm), 测定紫外-可见吸收光谱和荧光光谱. 荧光光谱以 $\lambda_{\text{ex}}=520$ nm 为激发波长, 扫描波长范围为 535~750 nm, 狭缝宽度为 2.5 nm.

3.2.3 细胞影像测试

向盛有 2 mL 培养基的细胞培养皿中加入 40 μL 的 **T1** 储备液, 保持在 37 $^{\circ}\text{C}$ 及 5% CO_2 条件下孵育 30 min, 用磷酸缓冲溶液(PBS)冲洗 3 遍后, 加入 10 μL Fe^{3+} 储备液再孵育 30 min, 用 PBS 冲洗 3 遍后在共聚焦显微镜下进行成像. 共聚焦显微镜用 100 倍油镜, $\lambda_{\text{ex}}=559$ nm, 收集 575~620 nm 波段, 分别采集亮场、荧光, 并合成叠加图.

辅助材料(Supporting Information) 探针 **T1** 的核磁共振谱和高分辨质谱, **T1** 与 Fe^{3+} 形成的络合物的高分辨质谱. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Meneghini, R. *Free Radical Biol. Med.* **1997**, 23, 783.
- [2] Aisen, P.; Wessling, R. M.; Leibold, E. A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, 3, 200.
- [3] Eisenstein, R. S. *Annu. Rev. Nutr.* **2000**, 20, 627.
- [4] Rouault, T. A. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 406.
- [5] Sumner, J. P.; Kopelman, R. *Analyst* **2005**, 130, 528.
- [6] Weizman, H.; Ardon, O.; Mester, B.; Libman, J.; Dwir, O.; Hadar, Y.; Chen, Y.; Shanzer, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 12368.
- [7] Brugnara, C. *Clin. Chem.* **2003**, 49, 1573.
- [8] Eid, C.; Hémadi, M.; Ha-Duong, N.; Chahine, J. E. H. *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, 1840, 1771.
- [9] Breuer, W.; Epsztejn, S.; Cabantchik, Z. I. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 24209.
- [10] Petrat, F.; Paluch, S.; Dogruöz, E.; Dörfler, P.; Kirsch, M.; Korth, H.-G.; Sustmann, R.; Groot, H. D. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 46403.
- [11] Crichton, R. R.; Dexter, D. T.; Ward, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 1189.
- [12] Dornelles, A. S.; Garcia, V. A.; Lima, M. N. M. d.; Vedana, G.; Alcalde, L. A.; Bogo, M. R.; Schröder, N. *Neurochem. Res.* **2010**, 35, 564.
- [13] Ohashi, A.; Ito, H.; Kanai, C.; Imura, H.; Ohashi, K. *Talanta* **2005**, 65, 525.
- [14] Liang, Z.-Q.; Wang, C.-X.; Yang, J.-X.; Gao, H.-W.; Tang, Y.-P.; Tao, X.-T. *J. Chem.* **2007**, 31, 906.
- [15] Lunvongsa, S.; Oshima, M.; Motomizu, S. *Talanta* **2006**, 68, 969.
- [16] Tesfaldet, Z. O.; Stefan, R. I. *Talanta* **2004**, 64, 1189.
- [17] Gomes, D. M. C.; Segundo, M. A.; Lima, J. L. F. C.; Rangelb, A. O. S. S. *Talanta* **2005**, 66, 703.
- [18] Chen, H.; Liang, P.; Hu, B.; Zhao, L.; Sun, D.-H.; Wang, X.-R. *Spectrosc. Spectral Anal.* **2002**, 22, 1019 (in Chinese). (陈浩, 梁沛, 胡斌, 赵丽, 孙大海, 王小如, 光谱学与光谱分析, **2002**, 22, 1019.)
- [19] (a) Carter, K. P.; Young, A. M.; Palmer, A. E. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 4564.
(b) Li, D.-X.; Sun, X.; Huang, J.-M.; Wang, Q.; Feng, Y.; Chen, M.; Meng, X.-M.; Zhu, M.-Z.; Wang, X. *Dyes Pigm.* **2016**, 125, 185.
(c) Feng, Y.; Li, D.-X.; Wang, Q.; Wang, S.-X.; Meng, X.-M.; Shao, Z.-L.; Zhu, M.-Z.; Wang, X. *Sens. Actuators, B* **2016**, 225, 572.
(d) Wang, Q.; Feng, Y.; Jiang, J.; Wang, W.-J.; Chen, J.-Y.; Sheng, H.-T.; Meng, X.-M.; Zhu, M.-Z. *Chin. Chem. Lett.* **2016**, 27, 1563.
- [20] Kim, H. N.; Lee, M. H.; Kim, H. J.; Yoon, J. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 1465.
- [21] Zhao, M.; Yang, X.-F.; He, S.; Wang, L. *Sens. Actuators, B* **2009**, 135, 625.
- [22] Shang, G.-Q.; Gao, X.; Chen, M.-X.; Zheng, H.; Xu, J.-G. *J. Fluoresc.* **2008**, 18, 1187.
- [23] Wu, J.-S.; Hwang, I.-C.; Kim, K. S.; Kim, J. S. *Org. Lett.* **2007**, 9, 907.
- [24] (a) Li, N.; Liu, M.; Yin, W.-T.; Yang, Z.; Li, J.-L.; Shi, Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 39 (in Chinese). (李娜, 刘美玲, 尹文婷, 杨征, 李剑利, 史真, 有机化学, **2011**, 31, 39.)
(b) Sun, W.; Hu, D.-Y.; Wu, Z.-B.; Song, B.-A.; Yang, S. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 997 (in Chinese). (孙伟, 胡德禹, 吴志兵, 宋宝安, 杨松, 有机化学, **2011**, 31, 997.)
(c) Guo, Z.-Q.; Park, S.; Yoon, J.; Shin, I. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 16.
(d) Zhu, L.; Yuan, Z.; Simmons, J. T.; Sreenath, K. *RSC Adv.* **2014**, 4, 20398.
(e) Carter, K. P.; Young, A. M.; Palmer, A. E. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 4564.
(f) Ding, Y.-B.; Tang, Y.-Y.; Zhu, W.-H.; Xie, Y.-S. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 1101.
(g) Sun, J.-F.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, 36, 151 (in Chinese). (孙京府, 钱鹰, 有机化学, **2016**, 36, 151.)
- [25] (a) Eggeling, C.; Volkmer, A.; Claus, A. M. *Chem. Phys. Chem.* **2005**, 6, 791.
(b) Su, N.; Yang, M.-P.; Meng, W.-F.; Yang, B.-Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, 35, 175 (in Chinese). (苏娜, 杨美盼, 孟文斐, 杨秉勤, 有机化学, **2015**, 35, 175.)
(c) Zhu, L.; Younes, A. H.; Yuan, Z.; Clark, R. J. *J. Photochem. Photobiol. A* **2015**, 311, 1.
(d) Hou, H.-H.; Qu, Z.-G.; Zhong, K.-L.; Bian, Y.-J.; Tang, L.-J. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, 36, 768 (in Chinese).

- (侯淑华, 曲忠国, 钟克利, 边延江, 汤立军, 有机化学, **2016**, 36, 768.)
- [26] Chen, X. Q.; Pradhan, T.; Wang, F.; Kim, J. S.; Yoon, J. *Chem. Rev.* **2012**, 112, 1910.
- [27] (a) Gao, Y.; Tian, M.; Zhang, B.; Zhang, M.; Li, J.-L.; Shi, Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2007**, 27, 269 (in Chinese).
(高勇, 田敏, 张斌, 张敏, 李剑利, 史真, 有机化学, **2007**, 27, 269.)
(b) Gao, Y.; Tian, M.; Guo, B. *Chem. Bull.* **2009**, 72, 15 (in Chinese).
(高勇, 张敏, 郭斌, 化学通报, **2009**, 72, 15.)
(c) Gao, Y.; Yang, X.-H.; You, C.-C.; OuYang, H.; Yuan, Y.-F. *J. Chem. Ind. Eng.* **2011**, 62, 374 (in Chinese).
- (高勇, 杨晓航, 游楚楚, 欧阳翰, 袁耀锋, 化工学报, **2011**, 62, 374.)
- (d) Fu, Mei.; Zhang, X.-W.; Wang, J.; Chen, H.-W.; Gao, Y. *Curr. Org. Chem.* **2016**, 20, 1584.
- [28] Yang, X.-H.; Li, S.; Tang, Z.-S.; Yu, X.-D.; Huang, T.; Gao, Y. *Chin. Chem. Lett.* **2015**, 26, 129.
- [29] Wan, X.-J.; Liu, T.-Q.; Liu, H.-Y.; Gu, L.-Q.; Yao, Y.-W. *RSC Adv.* **2014**, 4, 29479.
- [30] Yang, H.; Zhou, Z.-G.; Huang, K.-W.; Yu, M.-X.; Li, F.-Y.; Yi, T.; Huang, C.-H. *Org. Lett.* **2007**, 9, 4729.
- [31] Zhu, H.; Fan, J.-L.; Lu, J.; Hu, M.-M.; Cao, J.-F.; Wang, J.; Li, H.-L.; Liu, X.-J.; Peng, X.-J. *Talanta* **2012**, 5, 55.
- [32] Yang, X.-F.; Guo, X.-Q.; Zhao, Y.-B. *Talanta* **2002**, 57, 883.

(Cheng, F.)