

亚铁离子荧光探针的研究进展

马素芳^{a,c} 余 强^b 陆 利^a 李丽红^a
 刘 文^{a,c} 武志芳^{*,b,c} 李思进^{*,b,c}

(^a 山西医科大学基础医学院 太原 030001)

(^b 山西医科大学医学影像学院 太原 030001)

(^c 山西医科大学第一医院核医学科 太原 030001)

摘要 铁作为生命系统中最丰富的过渡金属元素,在许多生理和病理过程中发挥着无可替代的作用。铁平衡失调不仅会导致诸如癌症、心血管疾病、神经退行性疾病等的发生和发展,而且还会造成细胞铁死亡。尽管细胞中的铁有 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 两种形式,但细胞还原性微环境使其主要以 Fe^{2+} 形式存在。因此,开发一种对 Fe^{2+} 的特异性检测技术有助于深入了解 Fe^{2+} 与人类健康和疾病的关系。随着荧光成像技术的发展,近年来特异性检测 Fe^{2+} 的荧光探针引起学者们的极大关注。对近 10 年来报道的 Fe^{2+} 荧光探针,根据探针的设计思路、与 Fe^{2+} 的作用机理、光学特性以及其生物应用等方面进行了总结,并对 Fe^{2+} 荧光探针的发展前景进行了展望。

关键词 亚铁离子; 荧光探针; 荧光成像

Recent Progress in Fluorescent Probes for the Detection of Ferrous Ion

Ma, Sufang^{a,c} Yu, Qiang^b Lu, Li^a Li, Lihong^a
 Liu, Wen^{a,c} Wu, Zhifang^{*,b,c} Li, Sijin^{*,b,c}

(^a School of Basic Medical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

(^b Medical Imaging Department, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

(^c Department of Nuclear Medicine, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

Abstract Irons, as the most abundant transition metal in living system, play an irreplaceable role in many physiological and pathological processes. The misregulation of Fe^{2+} homeostasis not only affects the occurrence and development of various diseases, such as cancer, cardiovascular disease and neurodegenerative disorders, but also induces ferroptosis. Although two forms of iron (Fe^{2+} and Fe^{3+}) exist in cells, reducing microenvironment of cells makes it exist mainly in the form of Fe^{2+} . Therefore, developing a sensitive approach for Fe^{2+} is particularly important because it may contribute to the in-depth understanding of the relationship between Fe^{2+} and human health and disease. In recent years, with the rapid development of fluorescent imaging technique, fluorescent probes for the sensitive detection of Fe^{2+} have attracted great interest. Fe^{2+} fluorescent probes reported in the last ten years are summarized, according to probes design, sensing mechanisms with Fe^{2+} , optical properties and biological application. In addition, the development prospect of Fe^{2+} fluorescent probes is predicted.

Keywords ferrous ion; fluorescent probe; fluorescent imaging

铁不仅是细胞活动过程中的一种必需元素,而且是人体内最丰富的过渡金属^[1-3]。铁在许多生理过程中充当着越来越重要的角色,如铁与血红蛋白结合输送氧

气,作为细胞色素的一部分参与电子转移,协助核糖核苷酸还原酶合成核苷酸等^[4-6]。铁作为一种重要的活性因子参与 Fenton 反应,并引起氧化应激反应,进而产生

* Corresponding authors. E-mail: wuzhifang01@163.com; lisjinm123@163.com

Received June 2, 2020; revised July 10, 2020; published online July 30, 2020.

Project supported by the Youth Science Foundation of Shanxi Province (No. 201901D211348), the Scientific and Technological Innovation Programs of Higher Education Institutions in Shanxi Province (No. 2019L0409, 2019L0444), and the Ph. D Startup Fund of Shanxi Medical University (No. BS03201609). 山西省青年科技研究基金(No. 201901D211348)、山西省高等学校科技创新(Nos. 2019L0409, 2019L0444)和山西医科大学博士启动基金(No. BS03201609)资助项目。

大量活性氧物质,造成细胞损伤和器官功能紊乱^[7-8]。在生物体内,为了维持细胞的正常功能, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 之间进行互相转化,并保持平衡^[9]。尽管如此,由于还原性的细胞微环境,使得 Fe^{2+} 含量高于 Fe^{3+} 含量^[10]。但是,细胞中 Fe^{2+} 浓度失调通常会导致多种疾病,比如癌症、肝炎和心血管疾病等^[11-13];此外,阿尔兹海默症和帕金森综合征与铁含量异常也有着直接关系^[14]。2012年,Dixon等^[15]提出一种新的细胞死亡方式——铁死亡,这种细胞死亡方式主要依赖生物体内 Fe^{2+} 的浓度。由此可见, Fe^{2+} 具有非常重要的生物功能^[16]。因此,在临床医学、药学及化学生物学等领域,建立一种能够实时追踪和检测生物体内 Fe^{2+} 含量的方法对于深入研究其生物功能、了解 Fe^{2+} 与人类健康和疾病之间的关系是非常有意义的。

荧光探针法是指探针与被分析物发生特异性结合前后,探针分子的光物理性质发生明显改变,从而检测到其荧光信号的变化,以此实现对生物体内或环境中不同分子或离子含量的检测。该方法具有操作简便、取样量少和灵敏度高优点^[17-19]。此外,该方法能够结合生物荧光显像技术,实现细胞水平或者动物水平的活体检测,被认为是最有潜力的用于研究生物体内不同成分的工具^[20-23]。对于目前报道的金属离子荧光探针,设计思路主要有两种。一种是将荧光发色基团与识别单元通过linker连接构成的荧光探针,该类荧光探针中的识别单元通常能够选择性识别被检测的金属离子(图1)。其中由于荧光基团与识别单元的连接方式不同,使得其对被分析物的识别机理也不尽相同。主要有光诱导电子转移(PET)、分子内电荷转移(ICT)、荧光共振能量转移(FRET)、聚集诱导发光(AIE)和激基缔合物等^[24]。另一种是只由一种组分构成的探针(图2),该探针中的识别单元和荧光发色基团是同一结构单元,该类探针的合成过程相对简单^[25-26]。

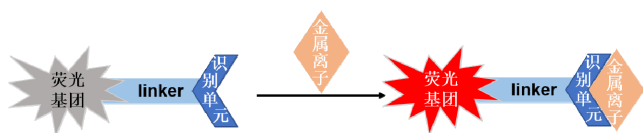


图1 荧光探针结构类型 I
Figure 1 Structure of fluorescent probe for type I

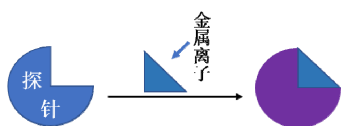


图2 荧光探针结构类型 II
Figure 2 Structure of fluorescent probe for type II

对于 Fe^{2+} 的检测,一方面由于 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 不同的氧化态彼此互变,导致很难建立高特异性的探针;另一方面,由于顺磁性的 Fe^{2+} 和荧光团之间强的作用力通常会诱导荧光猝灭,造成所构建的探针一部分是“on-off”型的,这类探针受生物自发荧光的影响,不便于观察^[27-29]。基于“off-on”型的 Fe^{2+} 响应探针数量也很少,而且大多数只被应用到细胞中 Fe^{2+} 的检测,而构建能够特异性检测动物模型中某一器官 Fe^{2+} 的浓度变化情况的探针,还有待于深入发掘研究^[30-32]。

通常性能良好的荧光探针主要具备特异性强、灵敏度高、检测限低及发射波长长等特点。目前研究的 Fe^{2+} 荧光探针主要有N-氧化物类、氮氧自由基类、内过氧化物类、三联吡啶类、螺环化合物类、仿生配体类、重金属类、亚胺类和酰化羟胺类等。本文将从探针与 Fe^{2+} 的作用机理、光学性能及应用三方面综述近10年国内外学者对 Fe^{2+} 荧光探针的相关研究。

1 基于“off-on”型 Fe^{2+} 荧光探针

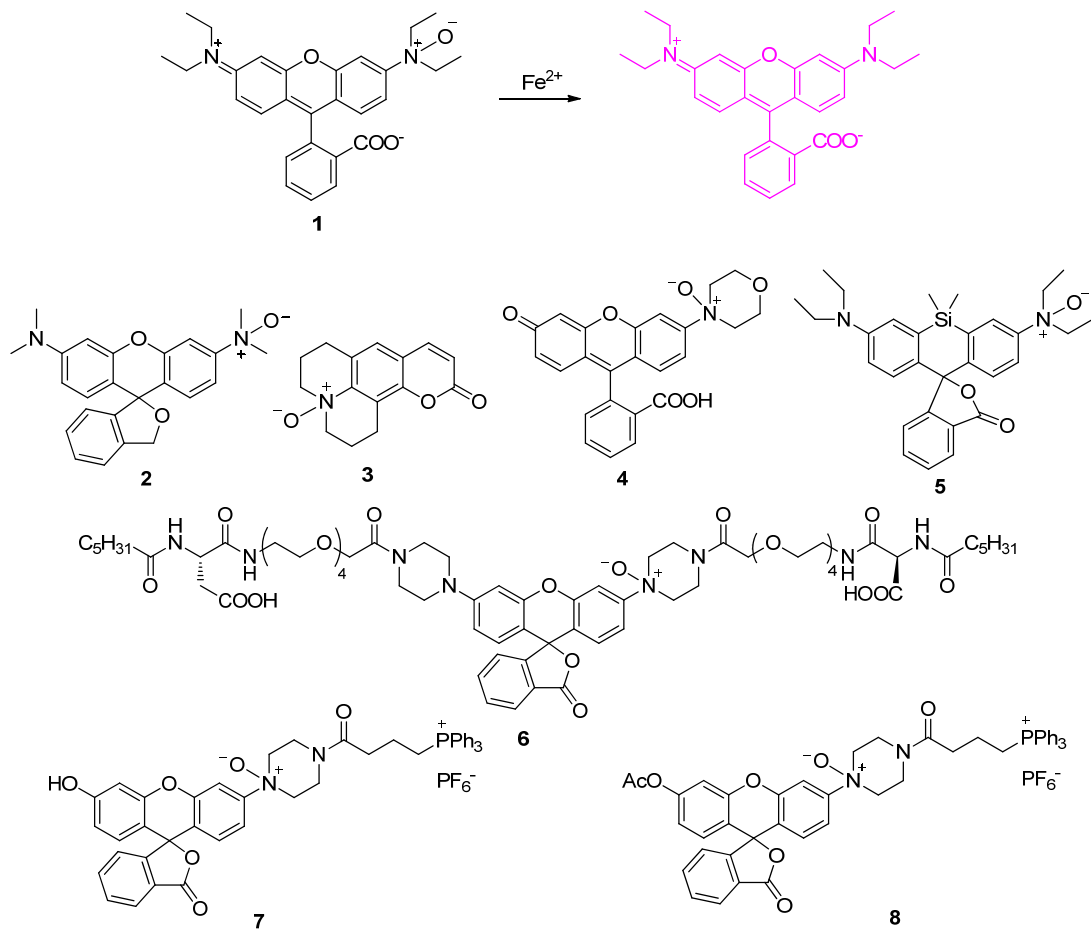
1.1 N-氧化物类 Fe^{2+} 荧光探针

N-氧化物基团通常用于保护三级胺,避免其转化为季铵盐。在中性条件下N-氧化物很容易被还原成三级胺。总的来说,N-氧化物类探针的分子结构中由于N-氧化物单元不仅降低了氮原子的给电子能力,而且造成氮原子的孤对电子无法与荧光发色团形成共轭体系,探针的荧光强度很弱;当探针与 Fe^{2+} 发生作用后,探针中N-氧化物单元被还原成三级胺,氮原子的孤对电子重新与荧光发色团中的芳香环形成共轭体系,荧光发射波长发生红移并伴随荧光强度增强,这样的荧光变化实现了N-氧化物对 Fe^{2+} 的“off-on”识别^[33]。

Nagasawa等^[33-38]报道了以N-氧化物单元作为 Fe^{2+} 识别单元的“off-on”型荧光探针1~8用于检测 Fe^{2+} 。

通过光学性质测定、理论化学计算以及电化学性质测定表明探针1在不同的pH条件下发生环结构和开环结构之间的互变。特别是在生理pH环境下,由于N-氧化物分子结构中存在扭曲分子内电荷转移(TICT)和部分光诱导电子转移过程(PET),使得探针1自身荧光很弱;当其与 Fe^{2+} 作用后,荧光迅速增强,并表现出较强的特异性(Eq. 1)。探针1不仅可以用于HepG2细胞中内源性 Fe^{2+} 的检测,而且还能成功检测到大鼠肾癌变模型组织中产生的 Fe^{2+} 。探针1是第一个被报道的基于“off-on”型用于检测活细胞中 Fe^{2+} 浓度的荧光探针。

探针2与探针1相比,不仅可以检测外源性的 Fe^{2+} ,而且还可以用于内源性 Fe^{2+} 浓度的检测。此外,探针2成功检测到在转铁蛋白介导的内吞作用诱导下,溶酶体中集聚的 Fe^{2+} 的浓度。



(1)

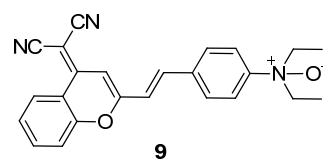
探针 **3~5** 也都可以用于检测细胞中的 Fe^{2+} 浓度。其中利用探针 **5** 对细胞中 Fe^{2+} 浓度的检测发现, 铁的氧化还原平衡在低氧条件下会发生改变, Fe^{2+} 浓度的增加依赖于细胞中含氧量而不依赖于细胞中的铁、铁蛋白和低氧活化酶的含量。此外, 利用流式细胞技术, 探针 **5** 实现了在亚细胞水平上对 Fe^{2+} 的检测。

探针 **6** 不仅能够靶向、实时检测 HepG2 细胞膜表面直接输送或内吞过程中瞬时产生的 Fe^{2+} , 而且还可以检测海马神经元中瞬时产生的 Fe^{2+} 。

通过抑制线粒体中血红素和亚铁螯合酶的合成, 探针 **8** 可以靶向检测 HepG2 和 HEK293 细胞线粒体中积累的 Fe^{2+} 。

叶勇等^[39]报道了一类以二氰甲基-4*H*-吡喃(DCM)作为荧光团, *N*-氧化物基团作为 Fe^{2+} 识别单元的基于分子内电荷转移(ICT)机理的双光子近红外 Fe^{2+} 响应荧光探针 **9**。在二甲基亚砜(DMSO)-磷酸缓冲溶液(PBS) ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH}=7.4$, $1:1$)中, 探针 **9** 与 Fe^{2+} (10 equiv.)作用, 其最大吸收波长发生红移 115 nm , 颜色由黄色变为粉色。探针 **9** 能够快速响应 Fe^{2+} (15 min), 具有灵敏度高和检测限低($4.5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)等优点, 探针 **9** 只对 Fe^{2+} 响应, 而对其他包括 Fe^{3+} 在内的金属离子不响

应, 表现出非常高的 Fe^{2+} 选择性(图 3)。此外, 该探针实现了双光子细胞成像并用于检测 MCF-7 细胞中的 Fe^{2+} 浓度, 其激发波长(680 nm)和发射波长($640 \sim 740 \text{ nm}$)均处于近红外二区, 具有进行双光子生物深度成像的潜力。



9

林伟英等^[40]巧妙地利用活细胞中酯酶催化水解酯的特点, 在探针分子中引入活细胞特异识别单元乙酯基和 Fe^{2+} 特异性识别单元 *N*-氧化物基团, 构建了一类特异检测活细胞中 Fe^{2+} 荧光探针 **10**。探针 **10** 在活细胞中酯酶催化作用下, 分子中的酯基发生水解, 生成的水解产物能够实现对 Fe^{2+} 的高选择性检测。在 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)缓冲液中, 探针的水解产物与 Fe^{2+} 作用后, 最大荧光发射波长为 630 nm , 荧光强度增强约 50 倍, 检测限达 $0.15 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。探针 **10** 不仅可以检测 HeLa 活细胞中外源性的 Fe^{2+} 浓度, 而且能够检测维生素 C (VC) 诱导动物模型中产生的内源性 Fe^{2+} 浓度。

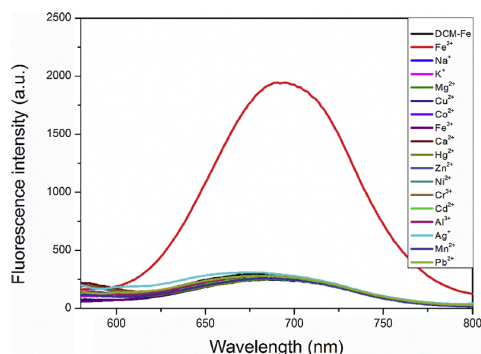
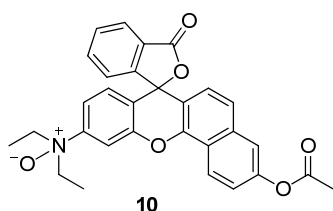
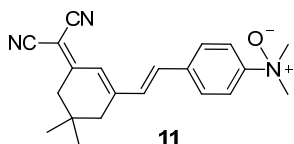


图3 探针9 (DCM-Fe)与不同金属离子响应后的荧光强度^[39]
Figure 3 Fluorescence intensity of probe 9 response to various metal ions

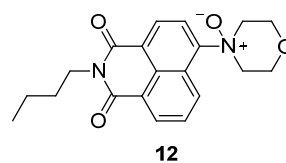


冯国强等^[41]以 *N*-氧化物基团作为 Fe^{2+} 识别单元, 具有大斯托克位移的荧光染料 DCI-NMe₂ 作为发色团, 构建了一类基于分子内电荷转移(ICT)机理的新型近红外荧光探针 **11**. 该探针在 HEPES 缓冲溶液和 DMSO 的混合溶液(10 mmol·L⁻¹, pH=7.4, DMSO 体积分数为 40%)中, 探针与 Fe^{2+} 作用后, 最大吸收波长和最大发射波长分别发生红移 117 和 100 nm, 颜色由黄色变成红色, 且荧光强度增强约 120 倍. 探针能够快速响应 Fe^{2+} (5 min), 具有灵敏度高、检测限低(51 nmol·L⁻¹)、斯托克位移值大(195 nm)和选择性强的优点, 可用于 MCF-7 细胞中外源性和内源性 Fe^{2+} 的检测. 此外, 探针 **11** 通过对癌细胞 MCF-7、HeLa 细胞和正常细胞 HEK-293T、L02 细胞中内源性 Fe^{2+} 的检测, 证明癌细胞中 Fe^{2+} 浓度高于正常细胞. 更重要的是, 探针 **11** 可以靶向定位亚细胞器脂质小滴, 并对其 Fe^{2+} 浓度实现实时检测. 不仅如此, 探针 **11** 还可以快速检测到小鼠体内的 Fe^{2+} .

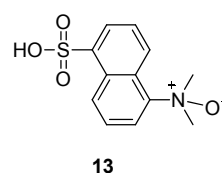


Kim 等^[42]报道了基于 1,8-萘二甲酰亚胺和吗啉的 *N*-氧化物类 Fe^{2+} 荧光探针 **12**. 探针 **12** 最大的特点是在 -20 °C 的低温台上与 Fe^{2+} 作用后, 荧光强度迅速增强, 从而实现对 Fe^{2+} 的检测, 使其具有分析冰的微观结构的潜力, 进一步研究 Fe^{2+} 对环境的影响. 此外, 该探针具

有对 Fe^{2+} 特异性强和灵敏度高等优点.



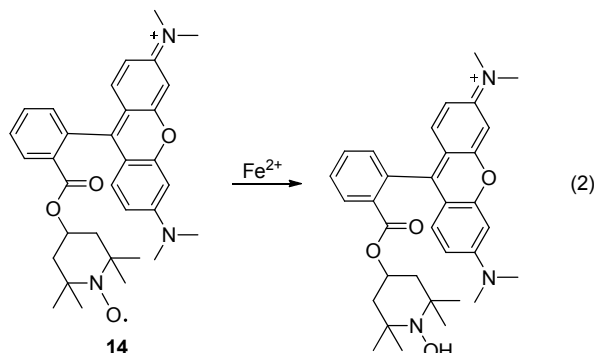
谢普会等^[43]基于丹磺酸构建了一种结构简单的 Fe^{2+} 荧光探针 **13**. 在 Tris-DMSO 溶液(pH=7.4, 4:1)中, 探针 **13** 能够选择性识别 Fe^{2+} , 而与其他生物小分子不响应; 具有较强的选择性、较高的灵敏度和较低的检测限(18 nmol·L⁻¹). 此外, 探针 **13** 可以用于生理盐水和活细胞中 Fe^{2+} 的检测.



1.2 氮氧自由基类 Fe^{2+} 荧光探针

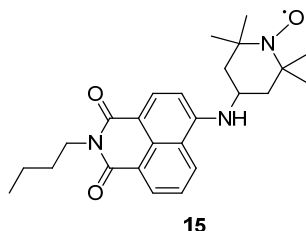
氮氧自由基类探针本身由于顺磁性的氮氧自由基基态和荧光发色团激发态的电子交换作用造成探针荧光猝灭; 当探针与 Fe^{2+} 作用后, 氮氧自由基被还原为反磁性的羟胺, 消除了上述荧光猝灭过程, 从而表现出荧光增强^[44].

郭明等^[44]利用 Fe^{2+} 还原氮氧自由基的反应, 将吡啶氮氧自由基作为 Fe^{2+} 的识别单元, 结合罗丹明荧光基团构建出高选择性的 Fe^{2+} 荧光探针 **14** (Eq. 2). 探针 **14** 与 Fe^{2+} 作用前后, 不仅荧光强度增强了 2.5 倍, 而且其电子顺磁共振(EPR)信号也发生改变. 探针 **14** 可以用于检测人的成纤维母细胞中 Fe^{2+} 浓度及亚细胞器线粒体中 Fe^{2+} 浓度的变化情况.



朱宝存等^[45]利用 4-氨基-2,2,6,6-四甲基吡啶氮氧自由基作为 Fe^{2+} 单元识别, 4-氨基-1,8-萘二甲酰亚胺作为荧光发色团, 构建出新型的 Fe^{2+} 荧光探针 **15**. 在磷酸盐缓冲溶液(PBS, 20 mmol·L⁻¹, pH=7.4)中, 探针 **15** 与

Fe^{2+} 作用后荧光强度增强约 5 倍. 探针能够快速响应 Fe^{2+} (50 s 内), 对 Fe^{2+} 表现出较强选择性, 较低检测限 ($89 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$); 能够用于 HeLa 细胞内和斑马鱼中 Fe^{2+} 的实时检测.

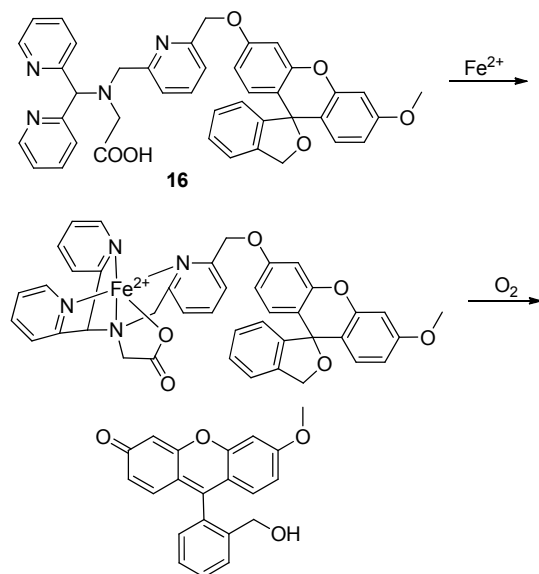


1.3 五齿配体 N_4O 类 Fe^{2+} 荧光探针

五齿配体 N_4O 类探针基于 “off-on” 检测 Fe^{2+} 机制可以概括为: 探针中配体与 Fe^{2+} 结合后, 会破坏荧光基团的共轭结构, 造成荧光猝灭; 在 O_2 存在下, 配体与荧光团之间的连接臂 C—O 键发生断裂, 荧光发色团被释放出来, 从而表现出较强的荧光^[46].

Chang 等^[46]受 P450 和单核细胞非血红素酶与铁络合的启发, 利用生物仿生配体作为 Fe^{2+} 识别单元, 荧光素醇衍生物作为荧光发色团, 构建了高选择性的 “off-on” 荧光探针 **16** (Scheme 1). 探针 **16** 可以高选择性地检测 Fe^{2+} , 而对其他金属离子不响应, 能够检测 HepG2 或者 C3A 细胞中外源性 Fe^{2+} 的含量. 此外, 在铁调素和维生素 C 的诱导下, 细胞产生的内源性 Fe^{2+} 浓度的变化同样可以被探针 **16** 检测到. 探针 **16** 为深入研究生理和病理过程中的铁平衡、铁储存等提供了全新的开端.

唐波等^[47]利用近红外荧光染料 QCy7 作为荧光发色团, 五齿配体 N_4O 作为 Fe^{2+} 识别单元, 构建了一种近红外荧光探针 **17**. 在 Tris 缓冲溶液 ($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 7.4$) 中, 探针 **17** 与 Fe^{2+} 作用后, 其荧光激发波长红移至 560 nm , 荧光发射波长红移至 690 nm , 显示出较大的斯托克位移值. 探针的灵敏度较高、检测限低 ($0.7 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).



图式 1 探针 **16** 对 Fe^{2+} 的响应机理

Scheme 1 Fe^{2+} detection mechanism of probe **16**

L^{-1}), 选择性强, 可以用于 HL-7702 细胞中外源性和内源性 Fe^{2+} 浓度的检测. 此外, 探针 **17** 不仅可以用于检测对乙酰氨基酚 (APAP) 引起肝损伤的肝细胞中 Fe^{2+} 浓度变化情况 (图 4), 而且可以用于药物引起肝损伤的小鼠肝中 Fe^{2+} 浓度的检测 (图 5), 并揭示了过载的 Fe^{2+} 与药物引起肝损伤的内质网应激反应有关.

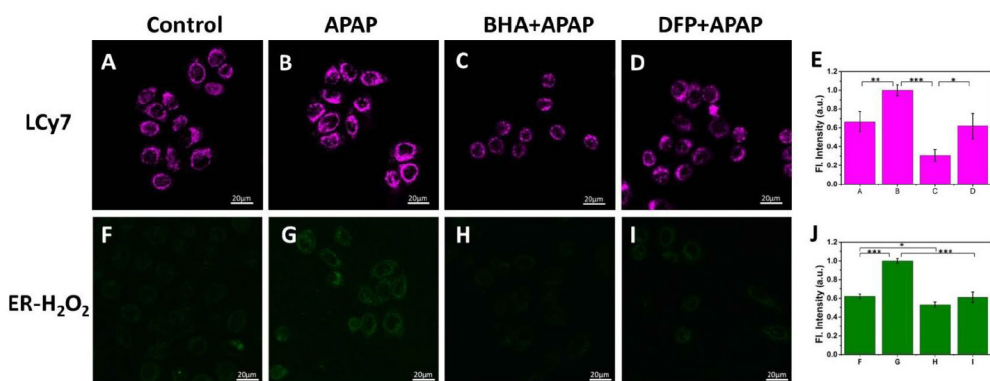
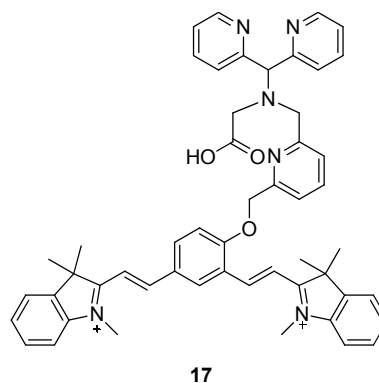


图 4 HL-7702 细胞与探针 **17** (LCy7)、 $\text{ER-H}_2\text{O}_2$ 以及 APAP 的共孵育图^[47]

Figure 4 Images of HL-7702 cells co-incubated with the probe **17** (LCy7), $\text{ER-H}_2\text{O}_2$ and APAP

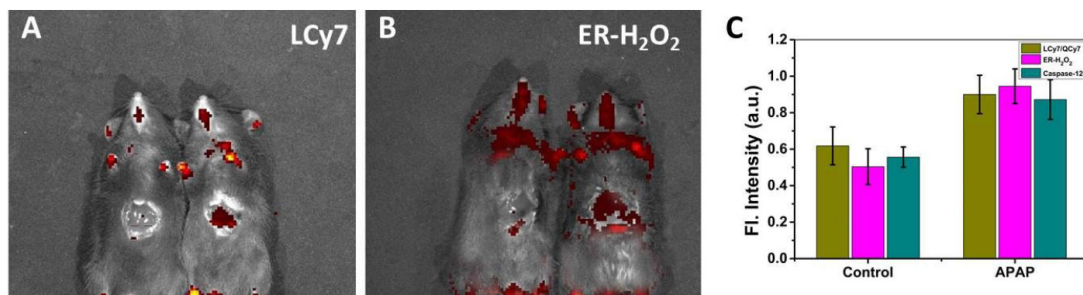
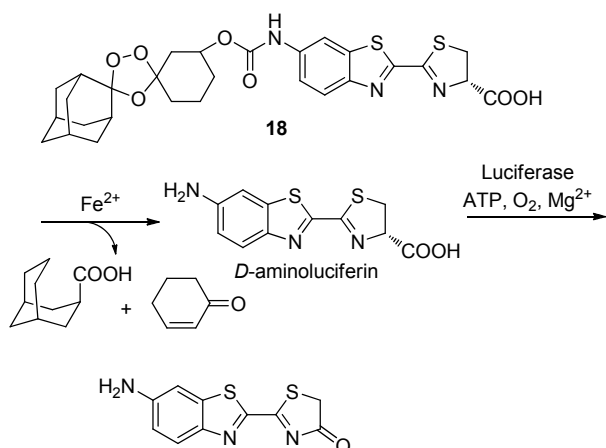
图5 探针 11 在小鼠肝脏中的成像^[47]

Figure 5 Images of probe 11 in the livers of mice

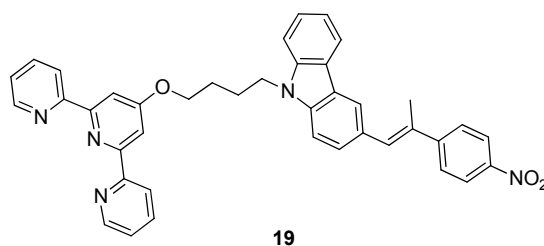
1.4 其它类 Fe^{2+} 荧光探针

Chang 等^[48]利用 Fe^{2+} 能够分解内过氧化物的特性, 将内过氧化物作为识别单元, 构建了探针 18. 探针 18 利用内过氧化物与 Fe^{2+} 作用后, 酰基键断裂, 释放出 *D*-氨基萤光素(Scheme 2), 进而实现对 Fe^{2+} 的选择性检测. 探针 18 可以检测铁缺失或铁过载的活细胞及小鼠中 Fe^{2+} 的生理浓度变化情况. 将探针 18 应用到全身细菌感染小鼠模型中, 可以检测到受感染组织中浓度增大的 Fe^{2+} .

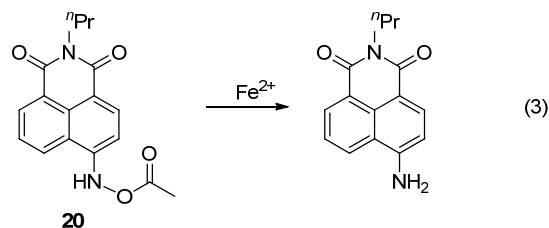
图式2 探针 18 对 Fe^{2+} 的反应机理Scheme 2 Fe^{2+} detection mechanism of probe 18

杨家祥等^[49]报道了以咪唑衍生物为发色基团, 三联吡啶为 Fe^{2+} 识别单元的聚集诱导发光型(AIEE) Fe^{2+} 荧光探针 19. 在 EtOH- H_2O ($V:V=7:3$) 混合溶液中, 探针 19 与不同浓度 Fe^{2+} 作用后, 由于 Fe^{2+} 和配体之间发生了金属-配体电荷转移(Metal-to-ligand-charge-transfer, MLCT), 在 557 nm 处表现出明显增强的紫外-可见吸收峰. 当逐渐加入 $0\sim 5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Fe^{2+} 溶液后, 探针最大发射波长不仅蓝移了 30 nm, 而且荧光强度发生了猝灭, 与此同时, 溶液颜色由无色变成黄色, 表现出荧光聚集诱导发光(AIEE)的性质. 探针 19 表现出较好的特异性、较高的灵敏度和较低的检测限(1.63

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 可以用于水环境中 Fe^{2+} 的检测.

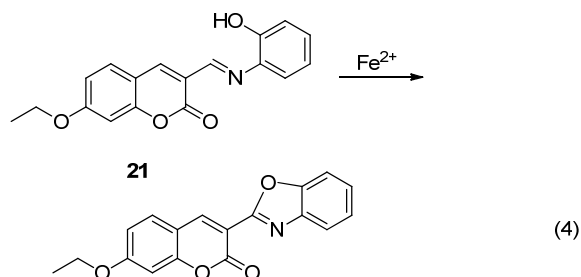


王伟等^[50]利用 Fe^{2+} 诱导酰肼胺中 N—O 键的断裂, 以此作为 Fe^{2+} 的识别单元, 结合荧光基团 4-氨基-1,8-萘二甲酰亚胺, 构建了一类基于 ICT 识别机理的新型荧光探针 20 (Eq. 3). 由于酰肼胺吸电子效应, 分子内存在 ICT 过程, 造成探针本身没有荧光; 当与 Fe^{2+} 作用后, Fe^{2+} 诱导酰肼胺单元中的 N—O 键断裂, 产生具有供电子效应的氨基, 探针结构由“拉-拉”电子形式转变为“拉-推”电子结构, ICT 过程被禁阻, 荧光增强. 该探针具有合成过程简单、选择性强、灵敏度高及检测限低($0.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的优点, 可以用于星形胶质细胞中 Fe^{2+} 的检测. 此外, 在小鼠缺血性中风模型的脑组织中, 利用 20 探针成功检测到 Zn^{2+} 诱导产生的 Fe^{2+} , 说明探针 20 具有检测细胞和动物中 Fe^{2+} 的潜力.

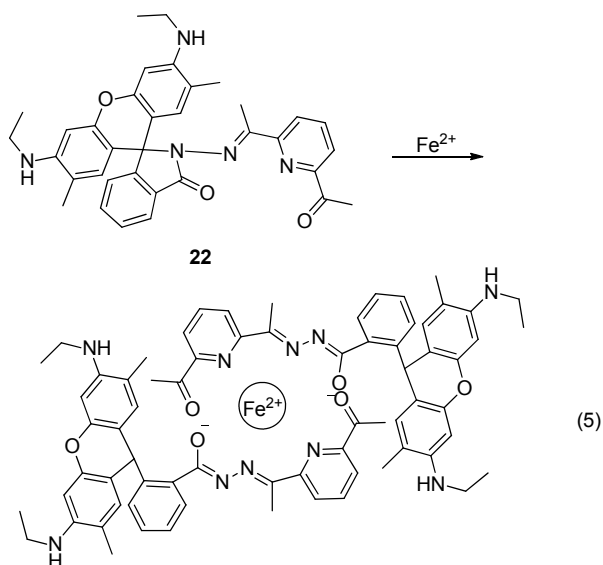


王坤等^[51]基于 Fe^{2+} 催化的成环反应构建了一类用于检测活细胞中 Fe^{2+} 的荧光探针 21 (Eq. 4). 探针 21 以香豆素为荧光发色团, 通过 $\text{C}=\text{N}$ 与 2-氨基苯酚连接. 由于 $\text{C}=\text{N}$ 键的旋转及自身异构化使探针几乎不表现荧光, 当探针与 Fe^{2+} 作用后, $\text{C}=\text{N}$ 键和酚羟基中的氧原子桥连成环, 阻碍了 $\text{C}=\text{N}$ 键的旋转及异构化, 从而使探针表现出荧光增强的性质, 以此实现对 Fe^{2+} 的检测. 探

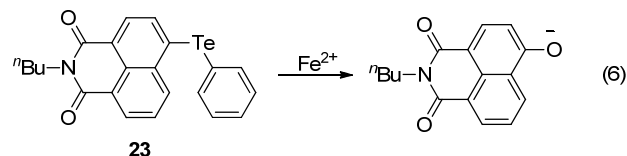
针 **21** 能够快速响应 Fe^{2+} (2 min), 与 Fe^{2+} 作用后荧光发射波长发生蓝移, 由 391 nm 移到 369 nm 处, 荧光强度增强约 24 倍. 对 Fe^{2+} 具有检测限低 ($45 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、特异性和灵敏度高的优点. 探针 **21** 可以用于 HepG2 细胞中 Fe^{2+} 的检测.



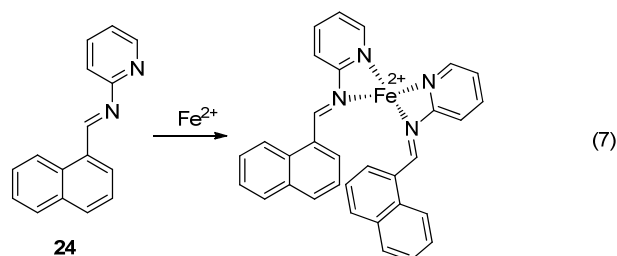
李洪娟等^[52]报道了一种基于罗丹明的 Fe^{2+} 响应探针 **22** (Eq. 5). 探针 **22** 分子结构中螺环可以与开环结构互变, 从而表现出很弱的荧光; 当探针溶液中加入 Fe^{2+} , 阻止了螺环与开环结构之间的互变, 主要是由于 Fe^{2+} 与氮原子和氧原子络合形成配合物, 形成的配合物表现出较强的荧光强度. 探针 **22** 与 Fe^{2+} 作用后荧光发射波长为 571 nm, 强度增强约 60 倍. 探针 **22** 对 Fe^{2+} 具有较高的特异性和灵敏度, 可以用于 RAW264.7 细胞中 Fe^{2+} 的检测.



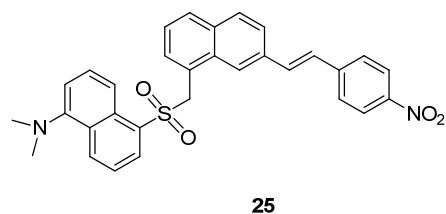
韩克利等^[53]报道了 1,8-萘二甲酰亚胺与苯环通过重金属 Te 连接构成的荧光探针 **23** (Eq. 6). 探针 **23** 中含有重金属 Te, 由于重金属效应荧光强度很弱, 当与 Fe^{2+} 作用后, 重金属 Te 与荧光团之间的化学键断裂, 释放出荧光发色团, 从而表现出较强的荧光, 实现对 Fe^{2+} 的检测. 探针 **23** 对 Fe^{2+} 具有较好的选择性, 检测限为 $0.15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 具备较好的细胞膜通透性, 可以检测 HL-7702 细胞中的 Fe^{2+} .



Nandhakumar 等^[54]报道了一种基于 ICT 识别机理的蔡吡啶荧光探针 **24** (Eq. 7). 探针本身由于 $\text{C}=\text{N}$ 键旋转, 发生荧光猝灭; 当其与 Fe^{2+} 作用后, 1 分子的 Fe^{2+} 会与 2 分子的探针分子形成铁的配合物, 从而限制了 $\text{C}=\text{N}$ 键的旋转, 表现出荧光增强. 在 CH_3CN -HEPES 溶液 ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH}=7.4$, 1:1) 中, 探针 **24** 表现出较好的选择性、较高的灵敏度和较低的检测限 ($0.15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). 探针可以用于市售药物、番茄汁、黑巧克力和自来水中 Fe^{2+} 浓度的检测.

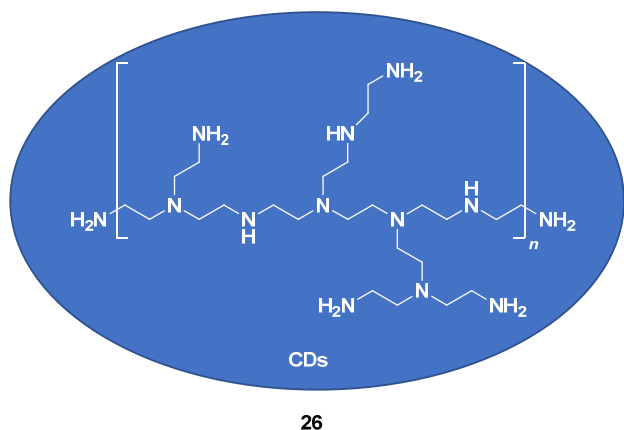


Varma 等^[55]报道了基于丹磺酰氯-苯乙烯基喹啉的 Fe^{2+} 响应探针 **25**. 在乙腈和水的混合溶液中 ($\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$, $V:V=9:1$), 探针 **25** 本身由于 ICT 机理荧光较弱, 当其与 Fe^{2+} 作用后, 由于 ICT 效应被禁阻, 荧光增强约 15 倍. 该探针对 Fe^{2+} 具有较高的特异性和灵敏度.



2 基于 “on-off” 型 Fe^{2+} 荧光探针

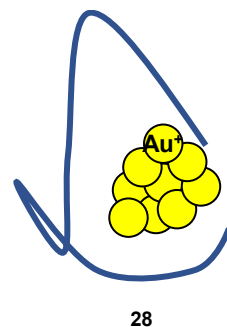
孙国英等^[27]报道了以类量子点 (CDs) 的荧光探针 **26**. 当探针与 Fe^{2+} 作用后, 探针最低空分子轨道 (LUMO) 中的电子可以转移到 Fe^{2+} 的 LUMO 轨道中从而有效地将 CDs 的荧光猝灭. 该探针具有较好的水溶性和稳定性. 与 Fe^{2+} 作用 10 min 后, 90% 的量子点发生荧光猝灭, 对 Fe^{2+} 具有较好的选择性和灵敏度. 探针 **26** 可用于牛血清和自来水中 Fe^{2+} 浓度的测定, 更重要的是, 该探针具有较低的细胞毒性和较好的生物相容性, 并且能够成功检测到 MCF-7 细胞中的 Fe^{2+} .



唐波等^[56]利用三联吡啶作为 Fe^{2+} 识别单元, 结合花菁染料, 构建了基于 PET 识别机理的近红外荧光探针 **27** (Eq. 8). 该探针最大吸收波长和最大发射波长分别处于 648 和 750 nm 处, 可以避免细胞自发荧光的干扰并减少对细胞的光辐射损伤. 此外, 探针 **27** 具有灵敏度高、选择性强、光稳定性好和细胞通透性的优点, 可以用于 HepG2、HL-7702 和 RAW 264.7 细胞中内源性 Fe^{2+} 浓度的变化情况.

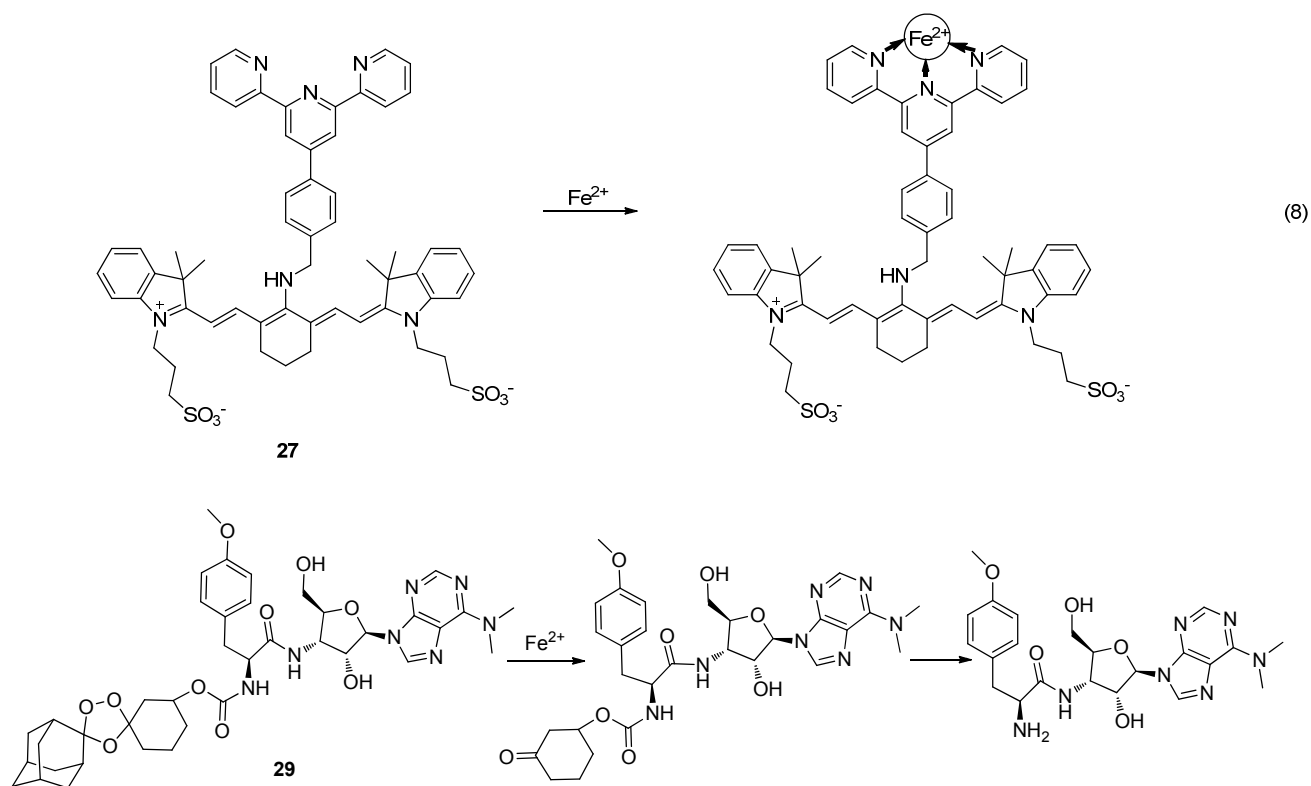
陈蓁蓁等^[29]构建了一类牛血清蛋白稳定化的金纳米簇荧光探针 **28**. 探针本身表现出较强的荧光, 当有

Fe^{2+} 和 H_2O_2 同时存在的条件下, 由于 Fe^{2+} 和 H_2O_2 发生 Fenton 反应产生羟基自由基, 羟基自由基可以将探针 638 nm 处的荧光猝灭, 实现探针对于 Fe^{2+} 的间接检测. 探针 **28** 具有光稳定性和生物相容性好、灵敏度高及选择性强的优点, 可以用于阿尔兹海默症(AD)雌性肉瘤小鼠模型中 Fe^{2+} 浓度的检测.



3 比率型及其他类型 Fe^{2+} 荧光探针

在生物体内发生 Fenton 反应的过程中, 细胞内的 Fe^{2+} 会导致氨基核苷嘌呤毒素的暴露, 而嘌呤毒素会在处理过的细胞中留下永久的剂量依赖性标记, 这样的标记可以用高特异性和灵敏度的免疫荧光测定法进行检测. 受此启发, Chang 等^[57]将内过氧化物与特定抗体



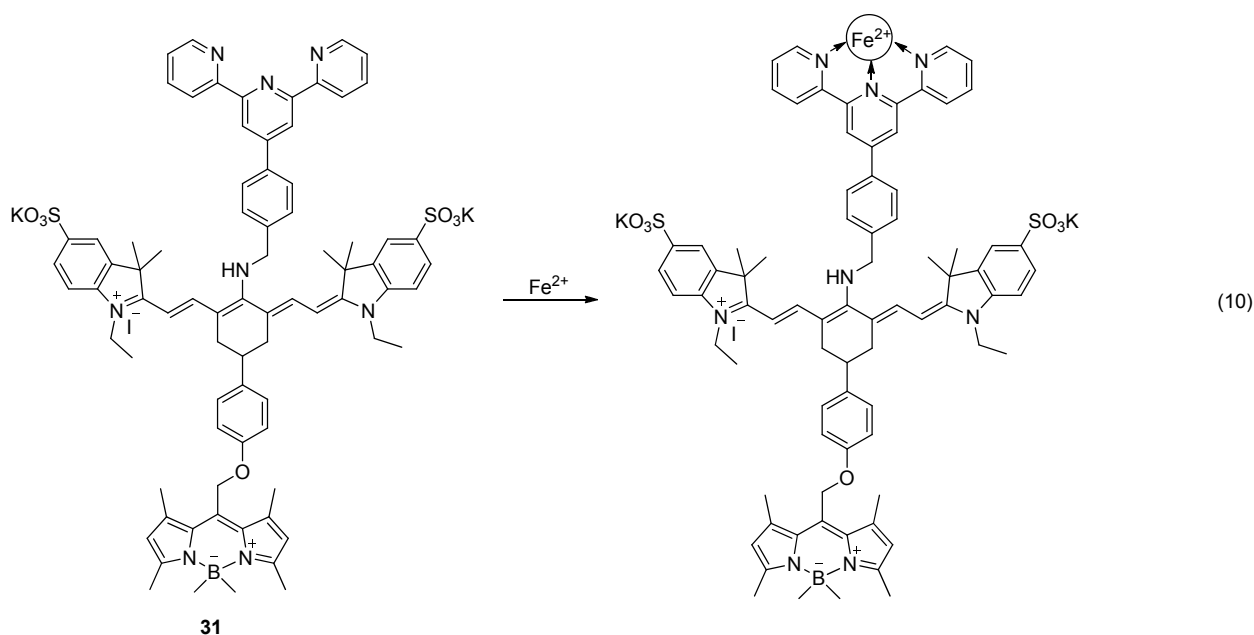
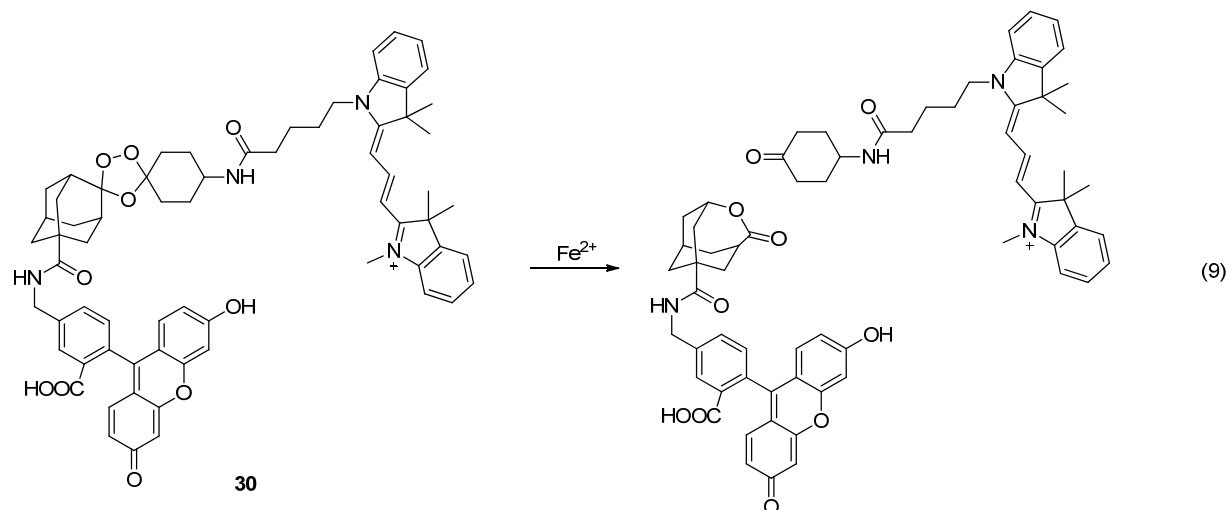
图式 3 探针 **29** 对 Fe^{2+} 的反应机理
Scheme 3 Fe^{2+} detection mechanism of probe **29**

呤霉素连接构成探针 **29** (Scheme 3). 探针 **29** 只对 Fe^{2+} 响应, 而对包括 Fe^{3+} 在内的其他金属离子不响应, 从而表现出较高的特异性和灵敏度. 该探针的特别之处在于, 与 Fe^{2+} 作用后, 释放出嘌呤霉素单元, 随后嘌呤霉素会与增加的多肽链结合后通过免疫荧光法被特异性检测到. 探针 **29** 在细胞中的稳定性特别好, 可以用于检测人骨肉瘤细胞(U2OS)中铁储藏蛋白过表达以及铁输出调控过程中 Fe^{2+} 浓度变化情况. 此外, 利用探针 **29** 检测到结肠癌细胞中 Fe^{2+} 浓度高于正常细胞中的 Fe^{2+} 浓度, 这为构建 Fe^{2+} 依赖的抗癌药物递送体系提供思路.

Chang 等^[58]以内过氧化物作为 linker, 分别与荧光基团氨基荧光素(5-AMF)和花菁染料(Cy3)连接, 得到基于荧光共振能量转移(FRET)机理的比率型荧光探针 **30**. 探针 **30** 由于 FRET 机理, 最大发射波长分别位于 515

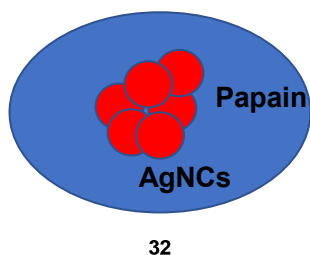
和 556 nm 处; 与 Fe^{2+} 作用后, 内过氧化物 linker 被断开, 两种荧光发色团被分成两个片段, 荧光共振能量转移机制被禁止, 表现出 515 nm 处的荧光强度增强, 而 556 nm 处的荧光强度减弱, 实现对 Fe^{2+} 的比率型检测(Eq. 9). 与生物体内其他相关的金属离子相比, 探针 **30** 对 Fe^{2+} 表现出较好的选择性和特异性. 此外, 探针 **30** 可以用于 HEK 293T、MCF-10A、MDA-MB-231 和 U2OS 细胞中 Fe^{2+} 含量的检测, 并发现癌细胞中 Fe^{2+} 含量高于正常细胞中 Fe^{2+} 含量. 探针 **30** 实现了铁死亡模型中 Fe^{2+} 浓度变化的检测, 为研究 Fe^{2+} 信号与铁死亡之间的关系开辟了新的思路.

唐波等^[59]报道了一类基于 PET 识别机理的荧光探针 **31**. 探针 **31** 含有 Fe^{2+} 选择性识别单元 4'-(氨基-甲基苯基)-2,2',6',2''-三联吡啶(Tpy)和近红外荧光团花菁染料

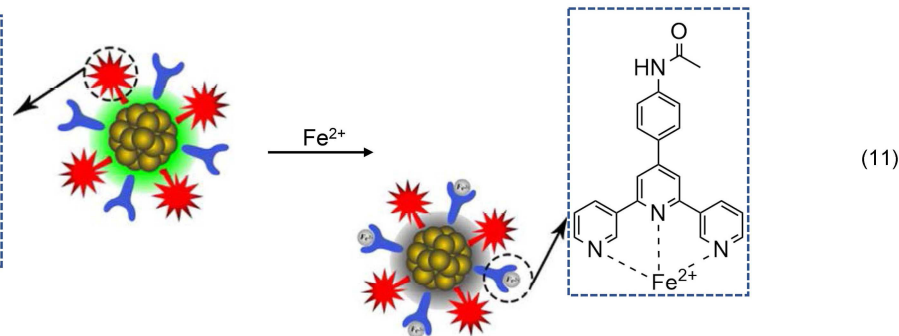
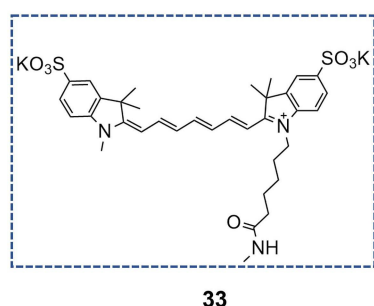


(Cy)及氟硼荧(BODIPY). 探针 **31** (Eq. 10)属于比率型荧光探针, 两处最大发射波长分别为 507 和 635 nm; 当探针中三联吡啶单元与 Fe^{2+} 结合后, 从配合物单元到 Cy 单元之间产生 PET 过程, 导致 635 nm 处的荧光被猝灭, 只表现出 507 nm 处的荧光. 在 HEPES 缓冲溶液(25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH=7.4)中, 随着加入不同浓度 Fe^{2+} , 探针在 635 nm 处的荧光逐渐减弱, 而 507 nm 处的荧光几乎保持不变, 表现出较好的线性关系. 探针 **31** 对 Fe^{2+} 具有较高的选择性和较低的检测限(12 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$). 此外, 探针具有较好的细胞膜通透性和低的细胞毒性, 可以用于 HL-7707 细胞中 Fe^{2+} 的检测.

赵美萍等^[28]报道了基于木瓜蛋白酶稳定化的双发射比率型银纳米簇探针 **32**. 当探针与不同浓度 Fe^{2+} 作用后, 由于 Fe^{2+} 与木瓜蛋白酶中的甘氨酸残基络合, 造成木瓜蛋白酶配体和银纳米簇处于 454 和 647 nm 处的荧光强度呈线性减弱, 其检测极限为 500 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 探针具有较好的选择性, 能够用于乳酸亚铁口服液中 Fe^{2+} 浓度的检测. 探针 **32** 的构建丰富了基于蛋白-银纳米比率型探针的应用.



田阳等^[60]用 4'-(氨基-甲基苯基)-2,2',6',2''-三联吡啶(Tpy)和磺基-花菁染料荧光发色团修饰金纳米(AuCNs), 构建了一种新型比率型荧光探针 **33** (Eq. 11). 探针本身具有 580~760 和 765~900 nm 两处的最大发射波长, 当其与 Fe^{2+} 作用后, 580~760 nm 出荧光强度



减弱, 而 765~900 nm 出荧光强度没有明显变化, 由此实现对 Fe^{2+} 的比率检测. 探针 **33** 能够快速响应 Fe^{2+} (1.23 s), 具有灵敏度高、选择性强及水溶性好等优点. 将探针用于 HepG2 的不同细胞器中 Fe^{2+} 浓度的检测, 发现线粒体中的 Fe^{2+} 浓度高于细胞质和溶酶体中的 Fe^{2+} 含量. 更重要的是, 探针 **33** 可以用于缺血性损伤细胞模型中 Fe^{2+} 浓度变化的检测, 并揭示出 Fe^{2+} 在局部缺血引起的脑损伤中起着至关重要的作用, 为研究氧化应激过程中 Fe^{2+} 的作用提供依据. 探针 **33** 可以用于缺氧情况下 HepG2 细胞中 Fe^{2+} 浓度的检测, 发现癌细胞的酸性低氧环境中 Fe^{2+} 浓度会升高.

4 结论与展望

近几年来, 荧光探针在 Fe^{2+} 的检测和应用方面虽然报道较少, 但也取得了可喜的进展. 本文从 Fe^{2+} 不同识别单元、探针的响应机理、探针的光学特性及生物应用等方面进行了归纳和总结, 如表 1 所示. 文献报道的大多数 Fe^{2+} 探针不仅可以用于细胞中内源性和外源性 Fe^{2+} 的检测, 而且还证实了许多疾病与 Fe^{2+} 的相关性, 比如, Chang 课题组和 Tian 课题组分别利用荧光探针证实了癌细胞含有较正常细胞浓度更高的 Fe^{2+} , Chang 还揭示了铁死亡过程中 Fe^{2+} 浓度的变化过程等. 然而, 为了更加明确 Fe^{2+} 在生理和病理过程中的作用以及与相关疾病的关系, 仍然有大量工作有待于进一步深入和完善, 如开发新的近红外一区的 Fe^{2+} 光声探针、具有靶向特定器官或细胞器的 Fe^{2+} 荧光探针、荧光与 PET 和磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)等相结合的 Fe^{2+} 多模态探针, 这些深入的探索和研究都会对深入理解 Fe^{2+} 在生物体内的具体功能及对疾病的作用机制有非常重要的意义. 相信在众多学者的共同努力下, 荧光探针在 Fe^{2+} 检测方面将取得更大的进展.

表 1 Fe²⁺ 荧光探针汇总
Table 1 Summary of Fe²⁺ fluorescent probe

探针	$\lambda_{\text{ex}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	响应方式	应用	Ref.
1	555	575	off-on (30 倍)	HepG2, MCF-7 细胞, 小鼠肾癌变模型组织	[33]
2	555	575	off-on (60 倍)	HepG2 细胞	[34-35]
3	405	495	off-on (10 倍)	HepG2 细胞	[36]
4	510	535	off-on (30 倍)	HepG2 细胞	[36]
5	645	660	off-on (60 倍)	HepG2 细胞	[36]
6	540	575	off-on (20 倍)	HepG2 细胞, 海马神经元	[37]
7	510	535	off-on (100 倍)	HepG2 细胞	[38]
8	—	—	off-on	HepG2, HEK293 细胞	[38]
9	550	690	off-on (7 倍)	MCF-7 细胞	[39]
10	580	630	off-on (50 倍)	HeLa 细胞, 鼠模型	[40]
11	505	700	off-on (120 倍)	MCF-7, HeLa, HEK-293T 和 L02 细胞, 鼠模型	[41]
12	395	540	off-on (130 倍)	—	[42]
13	350	489	off-on (5 倍)	Kyse180 细胞	[43]
14	—	580	off-on (2.5 倍)	Ws1 细胞	[44]
15	450	540	off-on (5 倍)	HeLa 细胞, 斑马鱼	[45]
16	404/496	508	off-on (6 倍)	HepG2, C3A 细胞	[46]
17	560	690	off-on (4 倍)	HL-7702, 鼠模型	[47]
18	—	—	off-on 无氧 1.7 倍, 有氧 30 倍	PC3-luc, MDA-MB-231-luc, HEK-293 和 LNCaP-luc 细胞	[48]
19	557	560	off-on (3 倍)	水	[49]
20	435	544	off-on (27 倍)	星形胶质细胞, 小鼠缺血性脑组织	[50]
21	369	452	off-on (24 倍)	HepG2 细胞	[51]
22	510	571	off-on (60 倍)	RAW264.7 细胞	[52]
23	445	550	off-on (16 倍)	HL-7702 细胞	[53]
24	225/300	370	off-on (1.7 倍)	番茄汁, 黑巧克力, 市售药物, 自来水	[54]
25	352	450	off-on (15 倍)	—	[55]
26	—	—	on-off	MCF-7 细胞	[27]
27	—	—	on-off	HepG2, HL-7702 和 RAW 264.7	[56]
28	—	—	on-off	阿尔兹海默症雌性肉瘤小鼠模型	[29]
29	—	—	免疫荧光法	U2OS 和 PC-3 细胞	[57]
30	494/545	515/556	比率法	HEK-293, MCF-10A, MDA-MB-231 和 U2OS 细胞	[58]
31	485/569	507/635	比率法	HL-7702 细胞	[59]
32	—	—	比率法	乳酸亚铁口服液	[28]
33	552	622/820	比率法	HepG2 细胞、缺血性损伤神经元	[60]

References

- Theil, E. C.; Goss, D. J. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4568.
- Hentze, M. W.; Muckenthaler, M. U.; Galy, B.; Camaschella, C. *Cell* **2010**, *142*, 24.
- Meynard, D.; Babitt, J. L.; Lin, H. Y. *Blood* **2014**, *123*, 168.
- Ganz, T. *Physiol. Rev.* **2013**, *93*, 1721.
- Wang, J.; Pantopoulos, K. *Biochem. J.* **2011**, *434*, 365.
- Kaplan, C. D.; Kaplan, J. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4536.
- Zeng, G.; Li, H.; Wei, Y.; Xuan, W.; Zhang, R.; Breden, L. E.; Wang, W.; Liang, F. S. *ACS Synth. Biol.* **2017**, *6*, 921.
- Enami, S.; Sakamoto, Y.; Colussi, A. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 623.
- Wang, J.; Pantopoulos, K. *Biochem. J.* **2011**, *434*, 365.
- Kakhlon, O.; Cabantchik, Z. I. *Free Radical Biol. Med.* **2002**, *33*, 1037.
- Liu, T.; Liu, W.; Zhang, M.; Yu, W.; Gao, F.; Li, C.; Wang, S. B.; Feng, J.; Zhang, X. Z. *ACS Nano* **2018**, *12*, 12181.
- Hezode, C.; Dhumeaux, D. *Gastroenterol. Clin. Biol.* **2000**, *24*, B82.
- von Haehling, S.; Jankowska, E. A.; van Veldhuisen, D. J.; Ponikowski, P.; Anker, S. D. *Nat. Rev. Cardiol.* **2015**, *12*, 659.
- Oshiro, S.; Morioka, M. S.; Kikuchi, M. *Adv. Pharmacol. Sci.* **2011**, *1*, 378278.
- Dixon, S. J.; Lemberg, K. M.; Lamprecht, M. R.; Skouta, R.; Zaitsev, E. M.; Gleason, C. E.; Patel, D. N.; Bauer, A. J.; Cantley, A. M.; Yang, W. S.; Morrison, B.; Stockwell, B. R. *Cell* **2012**, *149*, 1060.
- Richardson, D. R.; Lane, D. J. R.; Becker, E. M.; Huang, M. L.-H.; Whitnall, M.; Rahmanto, Y. S.; Sheftel, A. D.; Ponka, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 10775.
- Zhang, S. X.; Niu, Q. M.; Wu, S. Z.; Lv, H. J.; Xing, G. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 940 (in Chinese).
(张晨曦, 牛晴雯, 吴松泽, 吕海娟, 邢国文, 有机化学, **2019**, *39*, 940.)
- Wang, S. Q.; Shen, S. L.; Zhang, Y. R.; Dai, X.; Zhao, B. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 1717 (in Chinese).
(王胜清, 申世立, 张延如, 戴溪, 赵宝祥, 有机化学, **2014**, *34*, 1717.)
- Lv, T. Y. Z.; Zhu, K. N.; Liu, B. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 2786 (in Chinese).
(吕陶玉麟, 朱康宁, 刘斌, 有机化学, **2019**, *39*, 2786.)

- [20] Jiao, C. P.; Liu, Y. Y.; Lu, W. J.; Zhang, P. P.; Wang, Y. F. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, 39, 591 (in Chinese). (矫春鹏, 刘媛媛, 路文娟, 张平平, 王延凤, 有机化学, **2019**, 39, 591.)
- [21] Cheng, Y. W.; Shabir, G.; Li, X.; Fang, L. P.; Xu, L. Y.; Zhang, H. F.; Li, E. M. *Chem. Commun.* **2020**, 56, 1070.
- [22] Ma, S. F.; Fang, D. C.; Ning, B. M.; Li, M. F.; He, L.; Gong, B. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 6475.
- [23] Ding, Y. B.; Tang, Y. Y.; Zhu, W. H.; Xie, Y. S. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 1101.
- [24] Ding, Y. B.; Zhu, W. H.; Xie, Y. S. *Chem. Rev.* **2017**, 117, 2203.
- [25] Xie, Y. S.; Wei, P. C.; Li, X.; Hong, T.; Zhang, K.; Furuta, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 19119.
- [26] Tang, Y. Y.; Ding, Y. B.; Li, X.; Ågren, H.; Li, T.; Zhang, W. B.; Xie, Y. S. *Sens. Actuators, B* **2015**, 206, 291.
- [27] Wei, S.; Tan, L.; Yin, X.; Wang, R.; Shan, X.; Chen, Q.; Li, T.; Zhang, X.; Jiang, C.; Sun, G. *Analyst* **2020**, 145, 2357.
- [28] Mo, Q.; Jia, M.; Zhuang, P.; Yang, S.; Su, W.; Zhu, Y.; Shao, N.; Zhao, M. *Anal. Methods* **2019**, 11, 936.
- [29] Yang, S.; Jiang, Z. Y.; Chen, Z. Z.; Tong, L. L.; Lu, J.; Wang, J. H. *Microchim. Acta* **2015**, 182, 1911.
- [30] Aron, A. T.; Reeves, A. G.; Chang, C. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2018**, 43, 113.
- [31] Hirayama, T. *Acta Histochem. Cytochem.* **2018**, 51, 137.
- [32] Hirayama, T. *Free Radical Biol. Med.* **2019**, 133, 38.
- [33] Hirayama, T.; Okuda, K.; Nagasawa, H. *Chem. Sci.* **2013**, 4, 1250.
- [34] Mukaide, T.; Hattori, Y.; Misawa, N.; Funahashi, S.; Jiang, L.; Hirayama, T.; Nagasawa, H.; Toyokuni, S. *Free Radical Res.* **2014**, 48, 990.
- [35] Niwa, M.; Hirayama, T.; Okuda, K.; Nagasawa, H. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 6590.
- [36] Hirayama, T.; Tsuboi, H.; Niwa, M.; Miki, A.; Kadota, S.; Ikeshita, Y.; Okuda, K.; Nagasawa, H. *Chem. Sci.* **2017**, 8, 4858.
- [37] Niwa, M.; Hirayama, T.; Oomoto, I.; Wang, D. O.; Nagasawa, H. *ACS Chem. Biol.* **2018**, 13, 1853.
- [38] Hirayama, T.; Kadota, S.; Niwa, M.; Nagasawa, H. *Metallomics* **2018**, 10, 794.
- [39] Yang, X. P.; Wang, Y. S.; Liu, R.; Zhang, Y. R.; Tang, J.; Yang, E. B.; Zhang, D.; Zhao, Y. F.; Ye, Y. *Sens. Actuators, B* **2019**, 288, 217.
- [40] Dong, B.; Song, W.; Lu, Y.; Tian, M.; Kong, X.; Mehmood, A. H.; Lin, W. *Sens. Actuators, B* **2019**, 305, 127470.
- [41] Zheng, J.; Feng, S.; Gong, S.; Xia, Q.; Feng, G. *Sens. Actuators, B* **2020**, 309, 127796.
- [42] Lee, Y. H.; Verwilt, P.; Kim, H. S.; Ju, J.; Kim, J. S.; Kim, K. *Chem. Commun.* **2019**, 55, 12136.
- [43] Gao, G. Q.; Wang, X.; Wang, Z. M.; Jin, X. C.; Ou, L.; Zhou, J. J.; Xie, P. H. *Talanta* **2020**, 215, 120908.
- [44] Maiti, S.; Aydin, Z.; Zhang, Y.; Guo, M. L. *Dalton Trans.* **2015**, 44, 8942.
- [45] Zhang, X.; Chen, Y. N.; Cai, X. Y.; Liu, C. Y.; Jia, P.; Li, Z. L.; Zhu, H. C.; Yu, Y. M.; Wang, K.; Li, X. W.; Sheng, W. L.; Zhu, B. C. *Dyes Pigm.* **2020**, 174, 108065.
- [46] Au-Yeung, H. Y.; Chan, J.; Chantarojsiri, T.; Chang, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 15165.
- [47] Wu, L. J.; Ding, Q.; Wang, X.; Li, P.; Fan, N. N.; Zhou, Y. Q.; Tong, L. L.; Zhang, W.; Zhang, W.; Tang, B. *Anal. Chem.* **2020**, 92, 1245.
- [48] Aron, A. T.; Heffern, M. C.; Lonergan, Z. R.; Vander Wal, M. N.; Blank, B. R.; Spangler, B.; Zhang, Y. F.; Park, H. M.; Stahl, A.; Renslo, A. R.; Skaar, E. P.; Chang, C. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2017**, 114, 12669.
- [49] He, X.; Zhang, G. B.; Chi, Z. X.; Dai, P. F.; Huang, J. Y.; Yang, J. X. *Chem. Pap.* **2017**, 71, 2209.
- [50] Xuan, W. M.; Pan, R.; Wei, Y. Y.; Cao, Y. T.; Li, H. Q.; Liang, F. S.; Liu, K. J.; Wang, W. *Bioconjugate Chem.* **2016**, 27, 302.
- [51] Long, L. L.; Wang, N.; Han, Y. Y.; Huang, M. Y.; Yuan, X. Q.; Cao, S. Y.; Gong, A. H.; Wang, K. *Analyst* **2018**, 143, 2555.
- [52] Hou, G. G.; Wang, C. H.; Sun, J. F.; Yang, M. Z.; Lin, D.; Li, H. J. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2013**, 439, 459.
- [53] Qu, Z. J.; Li, P.; Zhang, X. X.; Han, K. L. *J. Mater. Chem. B* **2016**, 4, 887.
- [54] Santhoshkumar, S.; Velmurugan, K.; Prabhu, J.; Radhakrishnan, G.; Nandhakumar, R. *Inorg. Chim. Acta* **2016**, 439, 1.
- [55] Praveen, L.; Reddy, M. L. P.; Varma, R. L. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 6626.
- [56] Li, P.; Xiao, H. B.; Tang, B. *Chin. J. Chem.* **2012**, 30, 1992.
- [57] Spangler, B.; Morgan, C. W.; Fontaine, S. D.; Vander Wal, M. N.; Chang, C. J.; Wells, J. A.; Renslo, A. R. *Nat. Chem. Biol.* **2016**, 12, 680.
- [58] Aron, A. T.; Loehr, M. O.; Bogen, J.; Chang, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 14338.
- [59] Li, P.; Fang, L. B.; Zhou, H.; Zhang, W.; Wang, X.; Li, N.; Zhong, H. B.; Tang, B. *Chem.-Eur. J.* **2011**, 17, 10520.
- [60] Liu, Z. C.; Wang, S. N.; Li, W. Y.; Tian, Y. *Anal. Chem.* **2018**, 90, 2816.

(Zhao, C.)