

# 基于构象自适荧光团构建的比率型荧光探针及脂滴原位可视化研究

周意超<sup>1</sup>, 田贺<sup>1</sup>, 韩海浩<sup>2</sup>, 王辰瀚<sup>1</sup>, 胡习乐<sup>1</sup>, 贺晓鹏<sup>1</sup>

(1. 结构可控先进功能材料及其制备教育部重点实验室,  
费林加诺贝尔奖科学家联合研究中心,  
华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237;  
2. 烟台新药创制山东省实验室, 烟台 264117)

**摘要** 通过具有双荧光发射特性、亲脂的“构象自适”荧光基团 *N,N'*-二苯基-二氢二苯并[a,c]吩嗪(DPAC)与线粒体靶向基团三苯基膦(TPP)之间的偶联, 构建了可对脂滴(LD)和线粒体双重标记的比率型荧光探针 TPP-DPAC. 通过将探针与油酸(OA)诱导胞内 LD 生成的 HepG2 细胞共孵育, 证实了探针能同时对 LD 和线粒体进行标记, 荧光成像共定位系数( $R_f$ )分别为 0.96 和 0.95. 进一步实验表明, 由于探针对所处的细胞微环境构象自适应, 可动态发生红/蓝荧光信号变化, 从而实现细胞中 LD 形成与融合等动态事件的原位示踪. 该比率型荧光探针为监测细胞内 LD 代谢过程及其与线粒体的相互作用提供了可视化工具, 也为探究 LD 与其它亚细胞器的相互作用提供了新策略.

**关键词** 荧光探针; 脂滴; 线粒体; 荧光成像

中图分类号 O657

文献标志码 A

doi: 10.7503/ejcu20250204

## Fluorescent Probes Constructed Based on Conformationally-adaptive Fluorophores for the *In-situ* Visualization of Lipid Droplets

ZHOU Yichao<sup>1</sup>, TIAN He<sup>1</sup>, HAN Haihao<sup>2</sup>, WANG Chenhan<sup>1</sup>,  
HU XiLe<sup>1</sup>, HE Xiaopeng<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory for Advanced Materials and Joint International Research Laboratory of Precision Chemistry and Molecular Engineering, Feringa Nobel Prize Scientist Joint Research Center, Frontiers Center for Materiobiology and Dynamic Chemistry, School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;  
2. Shandong Laboratory of Yantai Drug Discovery, Bohai Rim Advanced Research Institute for Drug Discovery, Yantai 264117, China)

**Abstract** In this study, a ratiometric fluorescent probe, TPP-DPAC, was developed for dual labeling of lipid droplets (LDs) and mitochondria. This probe was constructed by conjugating the lipophilic "conformationally adaptive" fluorophore *N,N'*-diphenyl-dihydrodibenzo[a,c]phenazine (DPAC)—which exhibits dual fluorescence emission—with the mitochondrial-targeting group triphenylphosphine (TPP). By co-incubating OA-induced HepG2 cells with the

收稿日期: 2025-07-22. 网络首发日期: 2025-09-29.

联系人简介: 贺晓鹏, 男, 博士, 教授, 主要从事生物体系分子探针与药物靶向递送方面的研究. E-mail: xphe@ecust.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 92253306, 82130099, 22477030)资助.

Supported by the National Nature Science Foundation of China(Nos.92253306, 82130099, 22477030).

probe to stimulate LD formation, it was demonstrated that TPP-DPAC could simultaneously label both LDs and mitochondria. The fluorescence imaging co-localization coefficients ( $R_r$ ) were 0.96 and 0.95, respectively. Further experiments revealed that the probe undergoes dynamic changes in red/blue fluorescence signals due to its conformational adaptation to the local cellular microenvironment, thereby enabling *in situ* tracing of dynamic cellular processes such as LD formation and fusion. This ratiometric fluorescent probe provides a visualization tool for monitoring intracellular LD metabolism and its interaction with mitochondria, and offers a new strategy for studying interactions between LDs and other subcellular organelles.

**Keywords** Fluorescent probe; Lipid droplet; Mitochondria; Fluorescence imaging

在细胞器网络中,膜结合细胞器(如线粒体、溶酶体等)在特定的时空框架内参与细胞活动,而一些无膜细胞器[如核仁、脂滴(LD)等]则通过液-液相分离组装(LLPS),调节许多生理功能并与胞内环境进行物质交换<sup>[1-3]</sup>.研究表明,膜结合细胞器与无膜细胞器之间的相互作用也介导了包括活性物质交换、信号传导及功能协同等作用<sup>[4,5]</sup>.生物分子间的相互作用,特别是异质分子间的多组分相互作用,被认为是驱动LLPS的关键热力学因素<sup>[6]</sup>.LD和线粒体分别是无膜细胞器和膜结合细胞器的主要代表,在细胞功能中发挥着关键作用<sup>[7,8]</sup>.然而,以往关于LD相关动态亚细胞器间相互作用(如脂噬)的研究多聚焦于单一细胞器(如LD、溶酶体、线粒体或内质网)内的极性变化探索<sup>[9,10]</sup>,难以全面阐明这些过程的综合机制.

目前,可实时、动态观测细胞器相互作用中相变过程的高效化学工具仍相对缺乏.小分子荧光探针凭借其快速响应、高灵敏度、低背景干扰、高时空分辨率和非侵入性原位成像能力等优势,为探索异质性细胞器相互作用提供了有力工具<sup>[11-14]</sup>.迄今,已报道了多种可对LD本身,或对其与另一种亚细胞器同时荧光成像的分子探针<sup>[15-17]</sup>.

Chauhan等<sup>[10]</sup>开发了可同时靶向LD和内质网的探针NbB,用于探索LD与内质网相互作用时的极性变化和相变.Wang等<sup>[18]</sup>开发了可同时靶向LD和细胞核的探针CQPP,以核成像为参考,揭示了铁死亡模型中LD极性增加,以及LD与细胞质之间极性的均匀化现象.Meng等<sup>[19]</sup>和Liu等<sup>[20]</sup>分别开发了可同时标记溶酶体和LD的探针CMHCH和探针PTZ,用于研究溶酶体与LD的相互作用.比率探针因其能够通过双色成像捕获并量化不同细胞器中的动态变化,已成为研究细胞器间相变的理想工具,但目前鲜见比率型荧光探针用于定量追踪线粒体与LD互作时微环境动态极性变化的研究报道<sup>[21]</sup>.因此,开发性能优异的有机小分子比率荧光探针,对于深入探索LD生成过程中的相变机制至关重要<sup>[20]</sup>.

*N,N'*-二苯基-二氢二苯并[a,c]吩嗪(DPAC)具有本征双重荧光,其具备沿*N-N*轴从弯曲到平面构象的光诱导“构象自适”独特性质<sup>[22-25]</sup>.该荧光团在良分散的状态下通常发射橙红色荧光(平面构象),而当分子内的定轴转动受到限制则发射蓝色荧光(折叠构象)<sup>[26-29]</sup>.DPAC分子的非部分与*N,N'*二苯基基团之间空间位阻较大,且2个氮孤对轨道可能部分参与弯曲基态的 $\pi$ 共轭,这些性质均有利于形成基态的几何弯曲构型<sup>[26]</sup>.根据Baird规则<sup>[30]</sup>,分子被激发后进入最低激发态(S1)的芳香性反转驱动了DPAC的构象转变,分子克服内部能量势垒并弛豫为能量更低的、具有完全平展开的 $\pi$ - $\pi$ 共轭平面构型,导致非常规的大斯托克斯位移发射<sup>[31,32]</sup>.自Tian等<sup>[31,33]</sup>发现该独特分子发光效应以来,基于“构象自适”的荧光探针在环境响应传感器<sup>[34]</sup>、低分子量胶凝剂<sup>[35]</sup>、空穴传输材料<sup>[36]</sup>和机械敏感膜探针<sup>[37]</sup>等领域得到了广泛应用,但其在生物领域的应用仍有待开发<sup>[38]</sup>.

目前,特异性标记LD常用的方法是利用亲脂性染料作为LD探针.本文通过具有构象自适应特性的亲脂分子基团DPAC与线粒体靶向基团三苯基膦(TPP)的共价偶联<sup>[39,40]</sup>,构建了一个结构新颖的LD与线粒体双重标记比率型荧光探针TPP-DPAC,其化学结构如图1所示.当与细胞孵育时,TPP-DPAC由于含有三苯基膦阳离子基团,能特异靶向在具有高负跨膜电位的线粒体内膜上,在油酸孵育后,由于DPAC荧光团的亲脂性,TPP-DPAC从线粒体迁移至LD.通过一系列细胞成像实验,验证了该探针可通过对细胞微环境的自适应发射不同波长的荧光,继而实现LD和线粒体同时荧光标记.

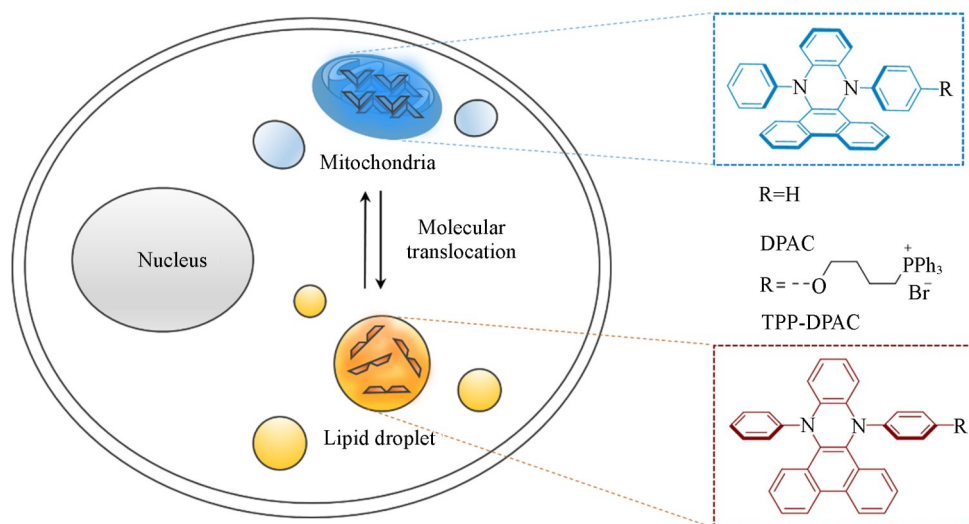


Fig. 1 Schematic diagram of the ratiometric fluorescent probe TPP-DPAC for the dual-fluorescence imaging of LDs and mitochondria

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、无水甲醇、四氢呋喃和乙腈，分析纯，安徽泽升科技有限公司；9,10-菲醌，纯度 $\geq 98\%$ ，上海笛柏生物科技有限公司；苯胺、四氯化钛、吡啶、三氟甲烷磺酸铜(II)和碳酸铯，纯度 $\geq 98\%$ ，上海阿达玛斯试剂有限公司；(4-溴丁基)三苯基溴化磷和4-碘苯甲醚，纯度 $\geq 97\%$ ，上海毕得医药科技有限公司；钯碳，纯度5%，上海皓鸿生物医药科技有限公司；水合肼，A. R. 级(纯度85%)，国药集团化学试剂有限公司；碳酸钾，分析纯，泰坦科技股份有限公司；1,3,5-三氯苯，纯度99%，上海麦克林生化科技有限公司；三溴化硼，纯度99.9%，上海迈瑞尔生化科技有限公司。

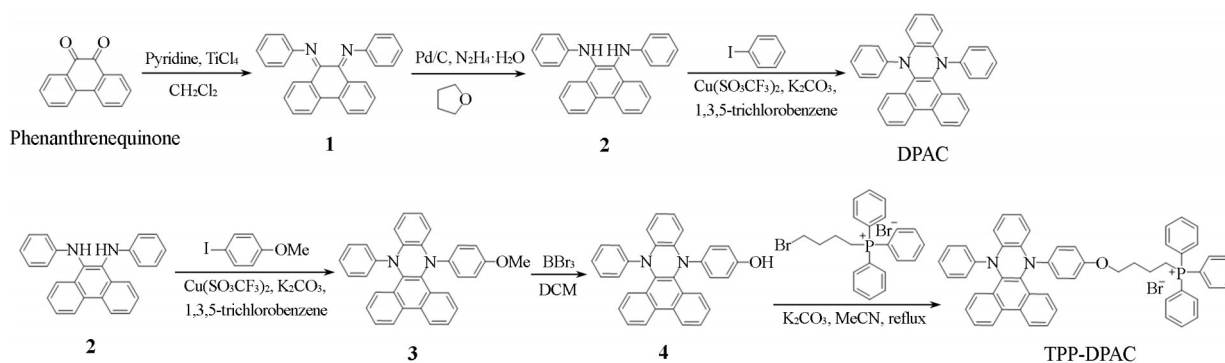
紫外分光光度计和荧光分光光度计，美国安捷伦公司(Agilent)；ADVANCE NEO 400M型核磁共振波谱仪，德国布鲁克公司；TOF SIMS型ESI-高分辨飞行时间质谱仪，美国沃特世公司；Opera PhenixTM/Operetta高通量高内涵成像分析系统，美国帕金埃尔默公司；VDP-20型隔膜泵，上海泰坦科技有限公司；DLSB-5L/-20型冷凝机，上海豫康科教仪器设备有限公司。

实验采用薄层色谱法(TLC)监测反应过程。硅胶板(20 mm $\times$ 50 mm)购自烟台黄海有限公司，胶黏剂为聚丙烯酸钠。使用上海广灏分析仪器有限公司ZF-7A型便携式紫外灯(254 nm/365 nm)照射进行显色。并通过365 nm S9DC型(3.7 V, 3 W)手电筒照射用于辅助荧光鉴别。实验中有有机合成使用的分析纯(A. R. 级)或化学纯(C. R. 级)试剂和溶剂以及用于核磁共振表征确定化合物结构正确性的氘化试剂购自上海泰坦科技有限公司，化合物分离纯化采用柱层析法，使用干法上样，硅胶为分析级硅胶(购自上海泰坦科技有限公司)。

### 1.2 中间体及目标产物的合成

化合物DPAC及TPP-DPAC的合成路线如Scheme 1所示

1.2.1 9,10-菲并醌-二苯胺(**1**)的合成 将菲醌(500 g, 24 mmol, 1 eq)、苯胺(9.83 g, 106 mmol, 4.4 eq)和吡啶(19.0 g, 240 mmol, 10 eq)加入500 mL严格除水的广口烧瓶中，用二氯甲烷溶解后，搅拌下用冰水浴降至0  $^{\circ}$ C；缓慢滴加TiCl<sub>4</sub>(15.0 g, 79.2 mmol, 3.3 eq)，从冰浴中取出烧瓶，自然恢复至室温，在室温下搅拌反应过夜。用薄层色谱法(TLC)监测反应过程，待完全反应后，将反应液抽滤，并用二氯甲烷洗涤多次，合并滤液，真空蒸发溶剂。将所得有机物用二氯甲烷溶解后，水洗并用二氯甲烷(100 mL $\times$ 3)萃取，合并有机相；真空蒸发溶剂后，加入乙醇进行重结晶，抽滤后用乙醇洗涤，保留滤渣，干燥后得到橙红色固体粗产品化合物**1**。TLC:  $R_f=0.25$ (PE/DCM体积比4:1)。



Scheme 1 Synthetic route of compounds DPAC and TPP-DPAC

1.2.2 *N*<sup>9</sup>,*N*<sup>10</sup>-二苯基菲-9,10-二胺(2)的合成 将化合物1粗品用80 mL四氢呋喃溶于500 mL烧瓶中,加入钯碳(256 mg, 2.40 mmol, 0.1 eq)和磁子后缓慢滴加20 mL水合肼,室温下搅拌过夜.用TLC监测反应完全后,用硅藻土过滤,二氯甲烷洗涤滤渣,收集滤液.旋转蒸干滤液后,用乙酸乙酯重结晶,有白色固体析出,过滤取滤渣并干燥.将所得滤渣溶于二氯甲烷,拌硅胶上样,蒸发溶剂,经柱层析分离纯化(PE/DCM体积比1:1),得白色固体化合物2(4.97 g,收率57.4%).TLC:*R*<sub>f</sub>=0.30(PE/DCM体积比4:1);<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, Chloroform-d), δ: 8.74(d, *J*=8.3 Hz, 2H), 8.02(dd, *J*=8.2, 1.3 Hz, 2H), 7.67—7.60(m, 2H), 7.56—7.49(m, 2H), 7.17—7.08(m, 4H), 6.83—6.76(m, 2H), 6.69—6.55(m, 4H), 5.83(s, 2H).

1.2.3 *N,N'*-二苯基-二氢二苯并[a,c]吩嗪(DPAC)的合成 将1,3,5-三氯苯(8.88 g, 48.9 mmol, 8.82 eq)、化合物2(2.00 g, 5.55 mmol, 1 eq)、碳酸钾(2.76 g, 20.0 mmol, 3.6 eq)和三氟甲烷磺酸铜(II)(662 mg, 1.83 mmol, 0.33 eq)加入500 mL烧瓶中,在170 °C及搅拌条件下加热至熔化并初步反应.约2 h后,加入碘苯(1.70 g, 8.32 mmol, 1.5 eq),继续加热至210 °C回流搅拌反应,用TLC监测反应.约24 h后反应结束,待体系温度自然冷却至室温.通过隔膜泵进行减压旋转蒸发,并用热风枪加热烧瓶,尽可能地除去1,3,5-三氯苯.自然冷却至室温后,将反应物用二氯甲烷溶解,抽滤除去残渣,用二氯甲烷多次洗涤滤渣并收集有机相.将有机相用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤除去Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>固体,旋转蒸发浓缩溶剂,拌硅胶上样,蒸发溶剂后经柱层析纯化(PE/DCM体积比1:1),得到淡黄色固体DPAC(1.141 g,收率47.3%).TLC:*R*<sub>f</sub>=0.5(PE/DCM体积比4:1);<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, Chloroform-d), δ: 8.73(d, *J*=8.3 Hz, 2H), 8.12(d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.74(dd, *J*=5.8, 3.5 Hz, 2H), 7.63(t, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.53(t, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.33(dd, *J*=5.9, 3.4 Hz, 2H), 7.07—6.91(m, 8H), 6.77(t, *J*=6.9 Hz, 2H).

1.2.4 11-甲氧基-9,14-二苯基-9,14-二氢二苯并[a,c]吩嗪(3)的合成 向500 mL烧瓶中加入1,3,5-三氯苯(8.88 g, 48.9 mmol, 8.82 eq)、化合物2(2.00 g, 5.55 mmol, 1 eq)、碳酸钾(2.76 g, 20.0 mmol, 3.6 eq)和三氟甲烷磺酸铜(II)(662 mg, 1.83 mmol, 0.33 eq),搅拌条件下加热至170 °C使1,3,5-三氯苯熔化并初步反应约2 h,再加入4-碘苯甲醚(1.95 g, 8.32 mmol, 1.5 eq),继续升温至210 °C回流搅拌反应,用TLC监测反应.约24 h后反应结束,自然降温至室温,通过隔膜泵减压旋转蒸发,用热风枪加热烧瓶,尽可能地除去1,3,5-三氯苯.待体系自然降至室温后,用二氯甲烷溶解剩余反应物,抽滤除去滤渣,并用二氯甲烷多次洗涤滤渣并收集有机相.用无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥有机相,过滤除去Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>固体后通过旋转蒸发浓缩溶剂,拌硅胶上样,蒸发溶剂,经柱层析分离纯化(PE/DCM体积比1:1),得到淡黄色固体3(1.673 g,收率64.9%).TLC:*R*<sub>f</sub>=0.32(PE/DCM体积比4:1);<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, Chloroform-d), δ: 8.69(d, *J*=8.3 Hz, 2H), 8.15(d, *J*=8.1 Hz, 1H), 8.09(d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.73—7.64(m, 2H), 7.64—7.51(m, 3H), 7.47(t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.33—7.23(m, 2H), 7.06—6.98(m, 4H), 6.94(d, *J*=8.2 Hz, 2H), 6.81—6.75(m, 1H), 6.60(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 3.62(s, 3H).

1.2.5 4-{14-苯基二苯并[a,c]吩嗪-9(14氢)-基}苯酚(4)的合成 将化合物3(1.673 g, 3.60 mmol,

1 eq)加入 100 mL 圆底烧瓶中, 再加入 30 mL 无水二氯甲烷, 搅拌使其充分溶解后, 将体系在冰水浴中冷却 30 min. 用注射器缓慢加入溶解于 9 mL 二氯甲烷的 2 mol/L 三溴化硼(4.511 g, 18.0 mmol, 5.0 eq), 溶液发生剧烈反应, 立即变成紫色. 加入三溴化硼溶液 1 h 后, 将烧瓶从冰水浴中取出, 室温下继续搅拌 12 h. 用 TLC 监测反应完成后, 将反应体系缓慢倒入 50 mL 冰水中, 淬灭过量的三溴化硼, 注意该过程中的强烈放热. 用 1 mol/L NaOH 溶液洗涤有机相, 二氯甲烷萃取(50 mL×3), 重复洗涤、萃取操作 1 次. 收集有机相, 用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤除去 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 固体后通过旋转蒸发浓缩溶剂, 拌硅胶上样, 蒸发溶剂, 经柱层析分离纯化(PE/EA 体积比 7:3), 得到淡黄色固体化合物 **4**(946 mg, 收率 58.3%). TLC:  $R_f=0.40$ (PE/EA=4:1); <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ : 9.21(s, 1H), 8.89(d,  $J=8.3$  Hz, 2H), 8.01(dd,  $J=8.2, 4.7$  Hz, 2H), 7.85—7.75(m, 2H), 7.71—7.59(m, 3H), 7.54(t,  $J=7.6$  Hz, 1H), 7.40—7.29(m, 2H), 7.16—7.02(m, 4H), 6.94(d,  $J=8.2$  Hz, 2H), 6.85(t,  $J=7.3$  Hz, 1H), 6.54(d,  $J=8.4$  Hz, 2H).

1.2.6 三苯基(4-{4-[14-苯基二苯并[a,c]吩嗪 9(14 氢)-基]苯氧基}丁基)溴化膦(TPP-DPAC)的合成 将化合物 **4**(100 mg, 0.222 mmol, 1 eq)、碳酸钾(92 mg, 0.666 mmol, 3 eq)和(4-溴丁基)三苯基溴化膦(127 mg, 0.266 mmol, 1.2 eq)依次加入 50 mL 圆底烧瓶中, 再加入 15 mL 无水乙腈, 搅拌下加热至 80 °C, 溶液呈淡黄色, 用 TLC 监控反应过程. 约 15 h 后停止反应, 冷却至室温, 蒸发除去有机溶剂, 剩余物用 30 mL 水洗涤, 并用二氯甲烷(20 mL×3)萃取, 收集有机相, 用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 过滤除去 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 固体, 旋转蒸发浓缩溶剂, 将所得样品拌硅胶上样, 蒸发溶剂, 经柱层析分离纯化(DCM/MeOH 体积比 10:1), 得到产物 TPP-DPAC(136 mg, 72.26%). TLC:  $R_f=0.33$ (DCM/MeOH=15:1); <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ : 8.91(d,  $J=8.3$  Hz, 2H), 8.02—7.95(m, 2H), 7.89—7.81(m, 6H), 7.79—7.75(m, 4H), 7.74—7.67(m, 9H), 7.65—7.60(m, 1H), 7.57—7.51(m, 1H), 7.42—7.33(m, 2H), 7.18—7.06(m, 4H), 7.00—6.94(m, 2H), 6.87—6.81(m, 1H), 6.69—6.61(m, 2H), 3.89(t,  $J=6.0$  Hz, 2H), 3.66—3.55(m, 2H), 1.88—1.76(m, 2H), 1.70—1.57(m, 2H). <sup>13</sup>C NMR(151 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ : 154.4, 147.9, 145.0, 142.6, 141.0, 137.5, 135.5, 134.8, 133.6, 133.5, 130.2, 130.1, 129.7, 129.1, 129.0, 128.5, 128.2, 127.4, 127.2, 127.0, 126.7, 126.6, 125.9, 125.3, 124.9, 123.9, 123.6, 123.6, 121.8, 121.0, 118.7, 118.2, 116.2, 114.9, 65.8, 29.1, 20.8, 19.7. HRMS(ESI,  $m/z$ ): [M]<sup>+</sup>calcd. for C<sub>54</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>OP<sup>+</sup> 767.3186; found 767.3190.

### 1.3 性能表征

1.3.1 紫外-可见吸收光谱分析 分别称取一定量(3~10 mg)的 DPAC 和 TPP-DPAC 后, 用少量 DMSO 溶解于西林瓶中, 配成 2 mmol/L 的探针母液. 使用紫外分光光度计, 设置速度为中速测试(600 nm/min), 校正模式为基线校正基线后, 放入空白比色皿校准基线. 向 1 mL 石英比色皿中加入 785  $\mu$ L 甲苯和 16  $\mu$ L TPP-DPAC 母液, 使比色皿中的探针浓度约为 40  $\mu$ mol/L, 充分振荡使探针均匀溶解在甲苯中, 进行紫外-可见光谱测试.

参照上述步骤依次完成 TPP-DPAC 和 DPAC 在水、二甲基亚砜、甲醇、乙腈、1,4-二氧六环及甲苯等不同极性溶剂中的紫外-可见吸收光谱测试.

1.3.2 荧光发射光谱分析 使用荧光分光光度计, 设置激发波长为 365 nm, 激发电压为 650 V, 以中速测试(600 nm/min)接收 365~800 nm 的荧光. 向 1 mL 石英比色皿中加入 795  $\mu$ L 甲苯和 4  $\mu$ L TPP-DPAC 母液, 使比色皿中的探针浓度约为 10  $\mu$ mol/L, 充分振荡使探针均匀溶解在甲苯中后开始测试.

采用相同方法测试 TPP-DPAC 和 DPAC 在水、二甲基亚砜、甲醇、乙腈、1,4-二氧六环及甲苯等不同极性溶剂中的荧光光谱.

1.3.3 荧光量子产率测定 使用荧光染料 R6G(乙醇中荧光量子产率  $\varphi=0.95$ )作为标准参照物, 计算了 2 种染料 TPP-DPAC 和 DPAC 的荧光量子产率. 实验测得在乙醇溶液中, DPAC 的  $\varphi=0.35$ , TPP-DPAC 的  $\varphi=0.24$ . 计算公式如下:

$$\varphi_x = \varphi_s \times (I_x/I_s) \times (A_s/A_x) \times (\eta_x^2/\eta_s^2) \quad (1)$$

式中:  $\varphi$  表示量子产率;  $I$  表示发射光谱中的积分面积;  $A$  为激发波长处的吸光度;  $\eta$  为溶液的折射率; 下标  $x$  和  $s$  分别表示待测化合物和标准参照物.

1.3.4 探针成像实验 将 HepG2 细胞与油酸(OA, 150  $\mu\text{mol/L}$ )共孵育 16 h, 诱导 HepG2 细胞形成 LD. 将 LD 探针(20  $\mu\text{mol/L}$ )和市售的 LD 荧光探针 Nile Red(2  $\mu\text{mol/L}$ )同时加入到诱导细胞中, 作用 30 min; 洗涤封片后进行荧光共聚焦成像. 将未诱导细胞与对照组进行比较, 设置仪器  $\lambda_{\text{ex}}=405$  nm. 采集蓝色通道的波长范围为 420~480 nm, 采集红色通道的波长范围为 580~620 nm. 尼罗红的激发波长  $\lambda_{\text{ex}}$  为 555 nm, 收集绿色通道(尼罗红)的波长范围为 570~590 nm.

为了探究 DPAC 和 TPP-DPAC 在活细胞中对线粒体和 LD 的成像标记性能, 将 LD 探针(20  $\mu\text{mol/L}$ )与 HepG2 细胞共孵育, 利用荧光共聚焦显微镜观察诱导 LD 生成前后探针在细胞中的荧光成像定位情况. 市售线粒体探针为红色 MitoTracker, 浓度为 100 nmol/L, 孵育 30 min, 激发波长  $\lambda_{\text{ex}}=559$  nm, 收集通道波长范围为 575~625 nm.

## 2 结果与讨论

### 2.1 荧光探针的紫外-可见吸收光谱

采用紫外-可见分光光度计测定了 DPAC 母核及 TPP-DPAC 探针在不同极性溶剂(水、二甲基亚砜、甲醇、乙腈、1,4-二氧六环和甲苯)中的紫外吸收光谱. 如图 2(A)和(B)所示, 两个探针在不同溶剂中的特征吸收峰均位于 365 nm 附近, 吸收波长受溶剂极性影响不显著, 未发生明显红移或蓝移, 与文献[25]报道的 DPAC 光物理性质相符. 相较于母核 DPAC, 经线粒体靶向基团修饰的 TPP-DPAC 探针的紫外吸收波长未发生明显变化, 且吸收同样不随环境极性变化.

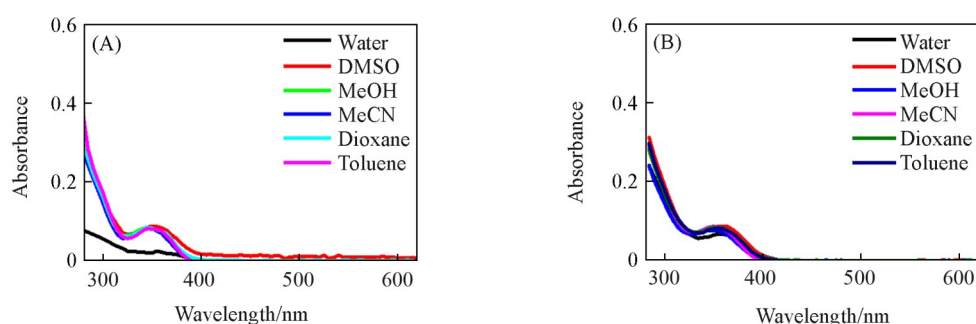


Fig. 2 UV-Vis absorption spectra of DPAC(A) and TPP-DPAC(B) in different solvents

### 2.2 荧光探针的溶剂化效应探究

采用荧光分光光度计测定了 DPAC 与 TPP-DPAC 在不同极性溶剂(水、二甲基亚砜、甲醇、乙腈、1,4-二氧六环和甲苯)中的荧光发射光谱, 以考察其在不同极性环境中的发光特性及环境自适应响应能力. 如图 3(A)和(B)所示, 在水相中, 探针在约 470 nm 处呈现强蓝色荧光发射, 但荧光强度存在差

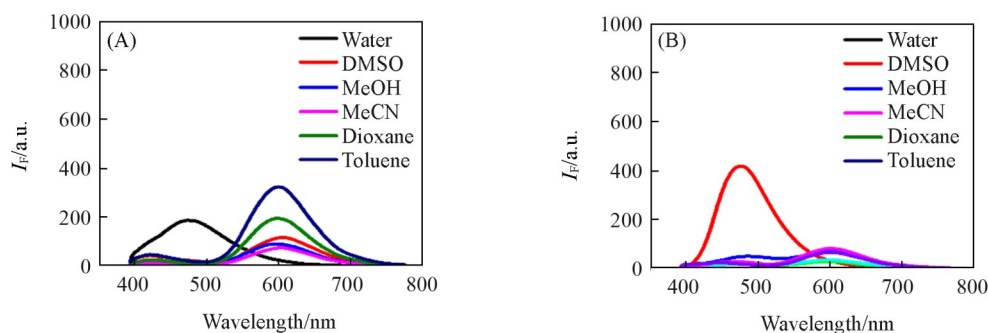
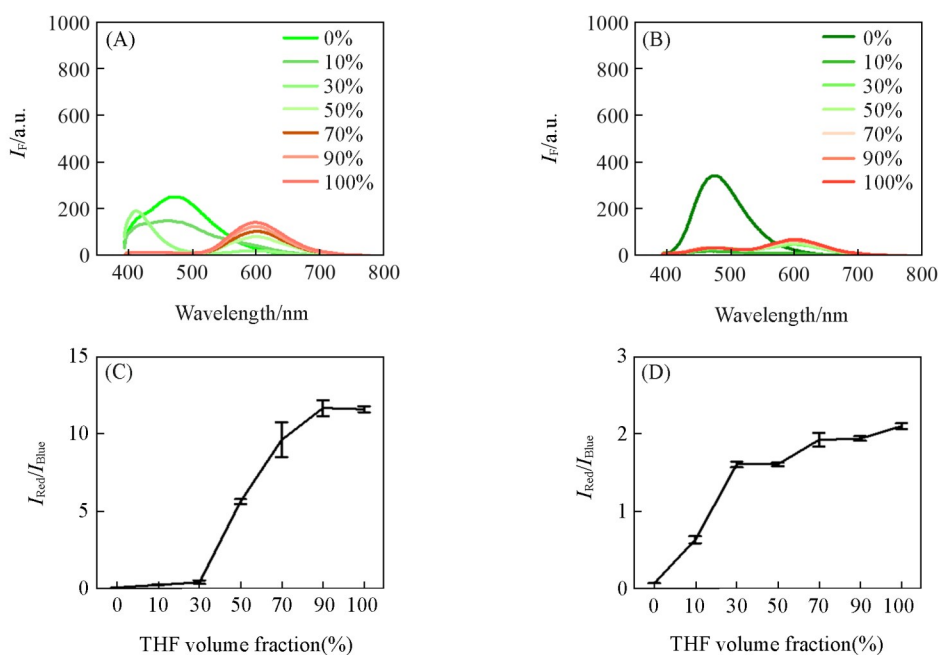


Fig. 3 Fluorescence emission spectra of DPAC(A) and TPP-DPAC(B) in different solvents

异. 随着溶剂极性改变, 探针的荧光发射波长和强度发生变化, 同时在约 600 nm 处出现显著的红色荧光发射, 该荧光发射特征与文献<sup>[33]</sup>报道一致. 基于红(约 600 nm)蓝(约 470 nm)双发射特性, 计算其荧光强度比值( $I_{\text{Red}}/I_{\text{Blue}}$ )发现, 该比值随溶剂极性增大而减小(溶剂极性顺序: 水>二甲基亚砜>甲醇>乙腈>1,4-二氧六环>甲苯). 此外, 考察了 DPAC 与 TPP-DPAC 在不同 pH 水溶液中的荧光发射光谱, 如图 S1 (见本文支持信息)所示, 两个探针的蓝/红比率型荧光信号几乎不受 pH 影响, 上述独特的荧光发射性质为细胞内不同极性微环境细胞器的可视化提供了可行性.

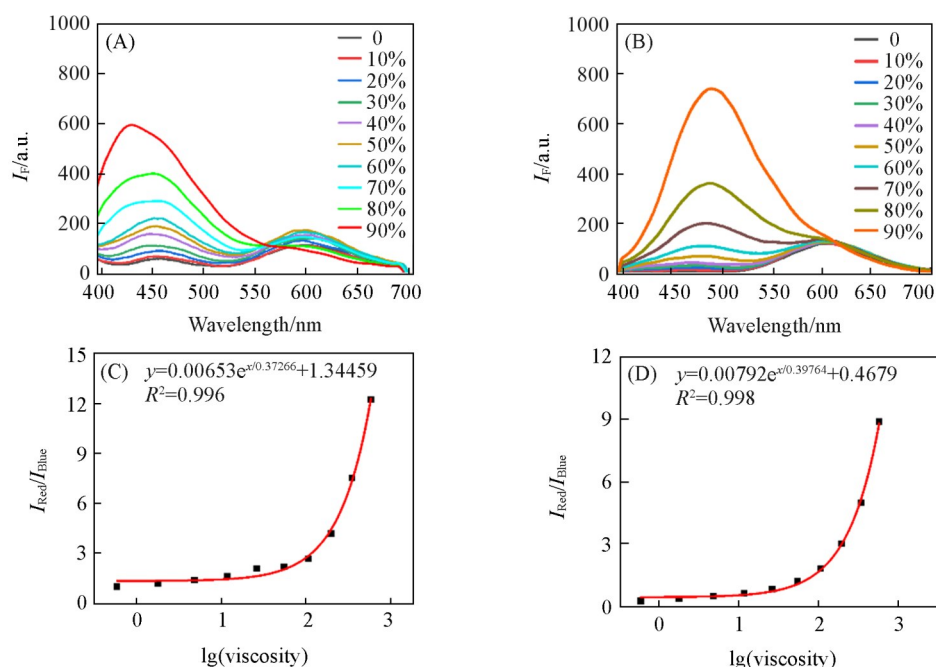
为深入评估探针 DPAC 和 TPP-DPAC 对外界极性变化的响应灵敏度, 进一步测试了探针在含有不同浓度四氢呋喃(THF)(体积分数 0, 10%, 30%, 50%, 70%, 90% 和 100%)的水溶液中的荧光光谱, 以此模拟极性微环境动态变化. 如图 4(A)和(B)所示, 两种化合物在不同 THF 浓度水溶液中均表现出显著的荧光变化, 随着 THF/H<sub>2</sub>O 浓度的增加, 探针在 470 nm 处的蓝色荧光强度逐渐减弱, 而在 600 nm 处的红色荧光则持续增强. 以  $I_{\text{Red}}/I_{\text{Blue}}$  的比值为纵坐标, THF 的体积分数为横坐标作图[图 4(C)和(D)]发现, 两种荧光探针的荧光信号  $I_{\text{Red}}/I_{\text{Blue}}$  比值均随 THF 水溶液中 THF/H<sub>2</sub>O 比例的增加而增大. 因此, 探针 DPAC 和 TPP-DPAC 均可通过红蓝荧光强度比值的变化来指示外部环境极性的改变.



**Fig. 4** Fluorescence spectra of probes DPAC(A) and TPP-DPAC(B) and plotting the red/blue fluorescence intensity ratios of DPAC(C) and TPP-DPAC(D) in aqueous solutions as a function of different THF contents in water

Concentration: 10  $\mu\text{mol/L}$ , excitation wavelength: 365 nm

进一步考察了探针 DPAC 和 TPP-DPAC 在不同比例甘油(高黏度)/甲醇(低黏度)混合溶剂中的荧光发射性能. 从图 5(A)和(B)可以发现, 在甘油占比少的低黏度环境中, DPAC 和 TPP-DPAC 主要发射红色荧光, 而在甘油占比逐渐增加的高黏度环境中, DPAC 和 TPP-DPAC 主要发射蓝色荧光. 进一步参照文献<sup>[43]</sup>方法探究了探针的蓝/红光比率荧光信号与微环境黏度之间的关系, 对探针 DPAC 和 TPP-DPAC 在甘油和甲醇混合溶剂中两个通道的荧光强度进行积分, 计算其蓝/红荧光通道荧光强度积分比值作为纵坐标, 并以黏度的对数为横坐标作图. 由图 5(C)和(D)可见, 探针的蓝/红光比率荧光信号与黏度高度相关, 其比值与黏度的对数呈指数关系. 以指数增长公式  $y=Ae^{x/t}+y_0$  作为拟合模型, 探针 DPAC 拟合后的方程为  $y=0.00653e^{x/0.37266}+1.34459$ , 决定系数  $R^2=0.996$ , 探针 TPP-DPAC 拟合后的方程为  $y=0.00792e^{x/0.39764}+0.4679$ , 决定系数  $R^2=0.998$ . 上述结果表明, 探针的蓝/红荧光强度比值可用以指示微环境黏度变化.

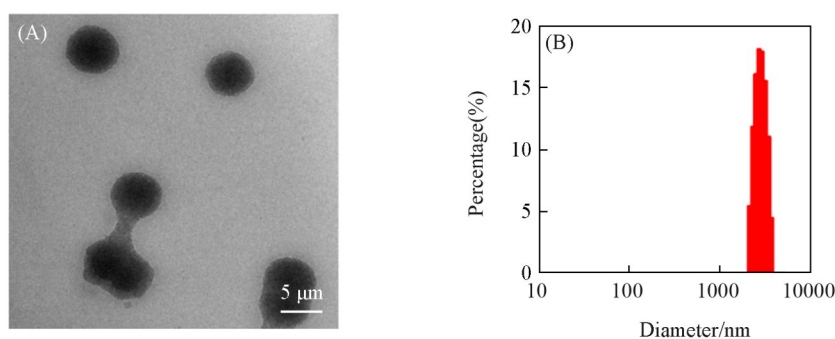


**Fig. 5** Stacked fluorescence spectra of DPAC(A) and TPP-DPAC(B) in glycerol/methanol mixtures, plotting the blue/red fluorescence intensity ratios of DPAC(C) and TPP-DPAC(D) in the glycerol/methanol mixtures as a function of different glycerol contents in methanol

The concentration of probes was 10  $\mu\text{mol/L}$ , the excitation wavelength was 365 nm.

### 2.3 荧光探针在LD模型中的成像性能

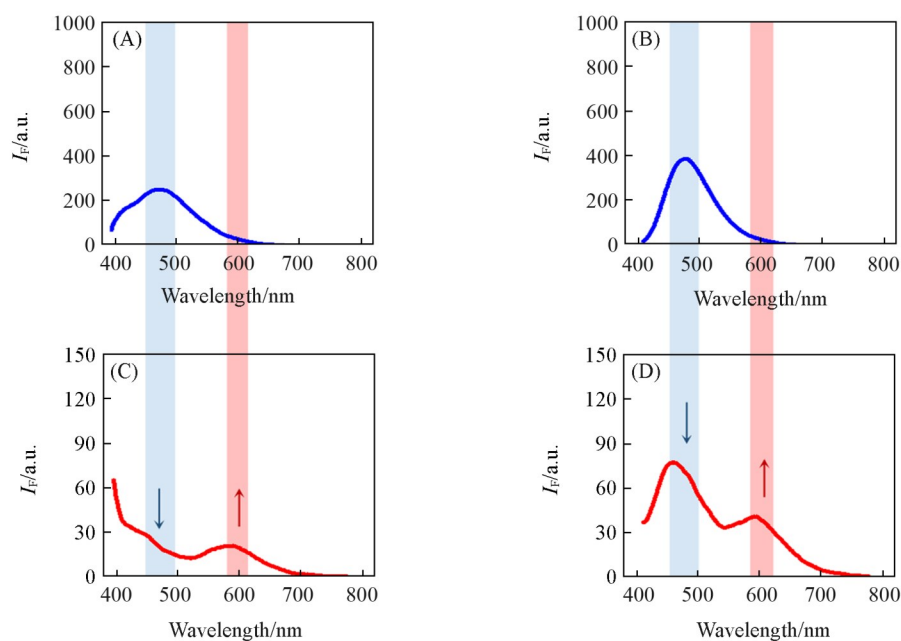
为验证探针的LD成像适用性,初步选用三油酸甘油酯(TAG)和十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)分别模拟LD内部中性脂质和外部磷脂单分子层构建模型,对探针DPAC和TPP-DPAC标记LD及其荧光成像性能进行模拟,以期为后续细胞实验提供研究基础.参照文献[44]方法制备LD模型后,分别使用透射电子显微镜(TEM)和动态光散射(DLS)对其尺寸分布与形貌特征进行了表征.由图6可见,TEM图像显示模型呈球形,尺寸均匀(约5  $\mu\text{m}$ )[图6(A)].利用DLS测得平均粒径为4148 nm,多分散指数(PDI)为5.6%,表明粒径分布均一[图6(B)].上述结果均证明制备了粒径均一、形貌规则的LD模型,适用于后续探针的荧光评价.



**Fig. 6** Representative TEM image(A) and dynamic light scattering of the LD model(B)

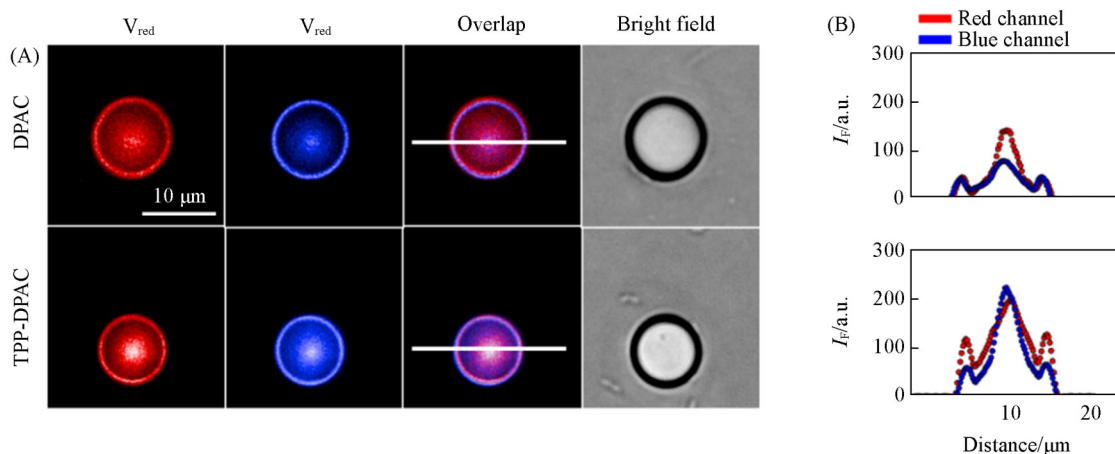
$c(\text{TAG})=0.5 \text{ mmol/L}$ , PBS solution,  $\text{pH}=7.40$ .

分别将制备的LD模型加入含DPAC或TPP-DPAC(10  $\mu\text{mol/L}$ )的PBS缓冲液中,使体系中三油酸甘油酯的终浓度为0.5 mmol/L.将探针与LD模型孵育1 h后,利用荧光分光光度计检测其荧光变化.如图7(A)和(B)所示,加入LD模型前,DPAC和TPP-DPAC在PBS缓冲液中均显示强烈的蓝色荧光发射(470 nm),而加入LD模型孵育1 h后,探针的蓝色荧光强度显著减弱,伴随其红色荧光发射(600 nm)明显增强[图7(C)和(D)].



**Fig. 7** Fluorescence spectrum of DPAC and TPP-DPAC before(A, B) and after(C, D) incubation with the LD-mimicking model

为更直观地评估探针对LD模型的荧光标记效果,利用共聚焦荧光显微镜观察了探针与模型相互作用后的荧光信号变化.如图8所示,将探针加入LD模型,混合均匀静置2 h后进行成像.结果显示,探针的荧光分布于整个LD模型内部,其红、蓝荧光通道均能清晰标记LD轮廓[图8(A)].进一步对共聚焦图像进行选择区域荧光强度定量分析[图8(B)],发现红、蓝荧光信号均清晰地呈现于LD区域,且随着荧光探针不断进行LD内部,发现红色荧光信号逐渐增强.上述结果表明,探针能够进入LD并实现清晰荧光成像,为后续细胞水平的LD成像研究奠定了基础.



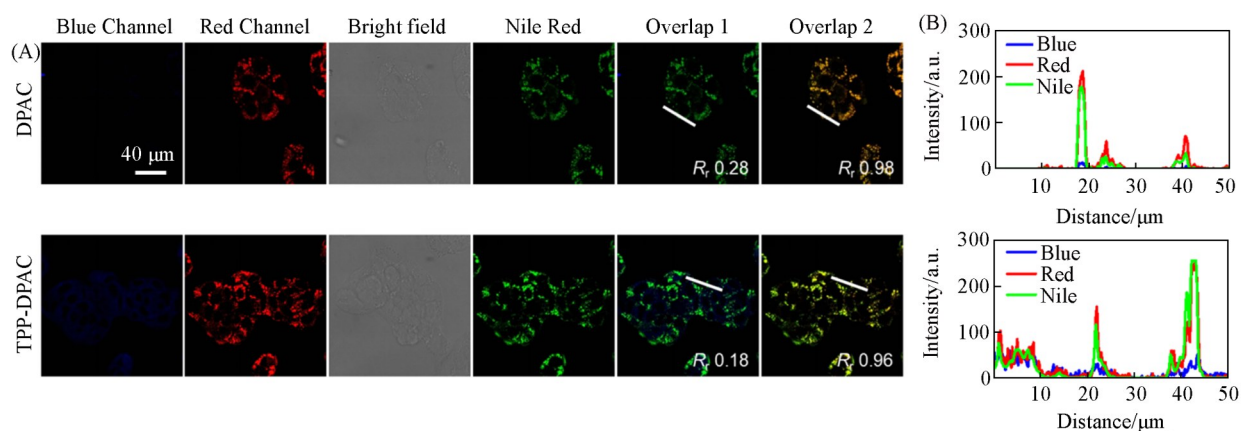
**Fig. 8** Fluorescent confocal images of the interaction between probes DPAC/TPP-DPAC and the lipid droplet model(A), fluorescence quantitative analysis of the selected area(white line) of the fluorescence confocal images of the probes DPAC/TPP-DPAC and the lipid droplet model(B)

(B) The upper and lower diagrams are the fluorescence quantification of the underlined region in the "overlap" panel of DPAC and TPP-DPAC, respectively.

#### 2.4 荧光探针对细胞中LD的标记性能

为验证探针在细胞中的LD成像性能,采用油酸处理 HepG2 细胞(人肝癌细胞系)16 h 诱导 LD 生成,随后分别用探针 DPAC 或 TPP-DPAC 孵育细胞 30 min,并以市售 LD 探针尼罗红(Nile Red)为阳性参照进行共定位成像,评估其LD标记效果.如图9(A)所示,探针 DPAC 和 TPP-DPAC 能够对细胞有效染

色,且两者的红色通道与尼罗红呈现高度共定位(共定位系数 $R_r$ 均 $>0.9$ ),而蓝色通道未表现出与尼罗红的强共定位( $R_r < 0.3$ ).图9(B)所示划线分析进一步证明了探针红色通道与尼罗红通道的高效共定位.上述结果表明,探针DPAC和TPP-DPAC能够实现对LD的特异性标记,并在其脂溶性环境中表现出明亮的红色发射.

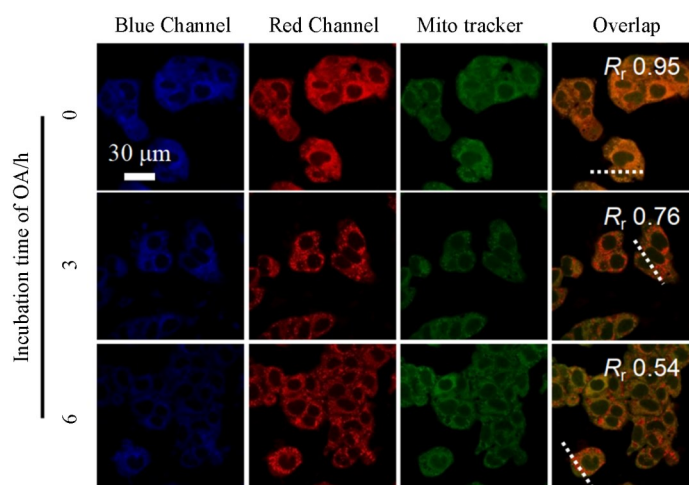


**Fig. 9** Fluorescence imaging of HepG2 cells incubated with probe DPAC(20  $\mu\text{mol/L}$ ) or TPP-DPAC(20  $\mu\text{mol/L}$ ) in the presence of Nile Red(2  $\mu\text{mol/L}$ ) used as a control pretreated with oleic acid(150  $\mu\text{mol/L}$ ) to generate LDs intracellularly(A) and quantitative analysis of the fluorescence signal in the underlined area corresponding to (A)(B)

(A)Overlap 1 and Overlap 2 are the co-localization of the blue and red fluorescence channels of TPP-DPAC with that of Nile red, respectively. (B)The upper and lower diagrams are the fluorescence quantification of the underlined region in the "overlap" panel of DPAC and TPP-DPAC, respectively.

## 2.5 荧光探针对于LD和亚细胞器的标记性能

通过细胞荧光成像验证了TPP-DPAC的线粒体靶向性能,并进一步探究了油酸诱导下探针对新生LD的标记情况.分别设置两组平行实验进行探究:第一组(未诱导组)分别用TPP-DPAC及市售线粒体探针MitoTracker Red处理未诱导LD的HepG2细胞,孵育30 min后,利用共聚焦荧光显微镜观察探针与线粒体的共定位成像效果;第二组(诱导组)先用TPP-DPAC与MitoTracker分别处理未诱导LD的HepG2细胞30 min,随后加入油酸诱导LD生成,分别诱导3 h和6 h后,利用共聚焦荧光显微镜观察共定位成像效果.如图10所示,Overlap为TPP-DPAC红色通道与MitoTracker Red通道的共定位成像图,



**Fig. 10** Fluorescence imaging of HepG2 cells incubated with probe TPP-DPAC(20  $\mu\text{mol/L}$ ) and a commercial MitoTracker Red(100  $\text{nmol/L}$ ) pretreated with oleic acid(150  $\mu\text{mol/L}$ ) with time

发现未添加油酸诱导时, TPP-DPAC 与线粒体探针 MitoTracker Red 共定位效果良好( $R_r=0.95$ ), 表明该探针能够实现对细胞线粒体的靶向标记. 加入 OA 诱导 LD 生成后, 随诱导时间延长, TPP-DPAC 与 MitoTracker Red 的共定位程度逐渐减弱, 3 h 后  $R_r$  降至 0.76, 6 h 后进一步降至 0.54.

实验探究了探针与脂滴的共定位系数随 OA 孵化时间的变化情况. 如图 11 所示, Overlap 为 TPP-DPAC 红色通道与 Nile red 通道的共定位成像图, 发现未添加油酸诱导时, TPP-DPAC 与 LD 探针 Nile red 共定位程度较低( $R_r=0.20$ ), 表明此探针在 LD 中的富集较少, 而当加入 OA 诱导 LD 生成后, 随着诱导时间延长, TPP-DPAC 与 Nile red 的共定位程度逐渐增强, 3 h 后  $R_r$  升至 0.34, 6 h 后进一步升至 0.57. 上述结果表明, 探针 TPP-DPAC 在 LD 未生成时主要定位于线粒体, 而随着 LD 诱导产生, 探针的疏水性使其逐渐向 LD 转位, 从而导致其与线粒体的共定位系数逐渐下降, 而与 LD 的共定位系数逐渐升高.

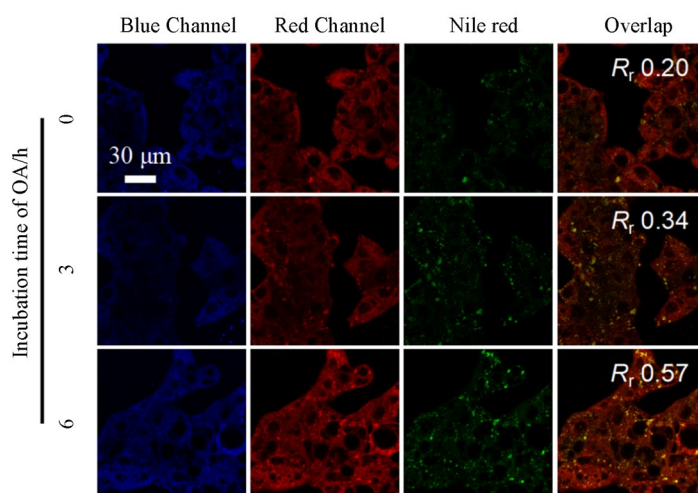


Fig. 11 Fluorescence imaging of HepG2 cells incubated with TPP-DPAC(20  $\mu\text{mol/L}$ ) and Nile Red(100  $\text{nmol/L}$ ) pretreated with oleic acid(150  $\mu\text{mol/L}$ ) with time

进一步通过探针 TPP-DPAC 的红/蓝光比率型荧光强度变化, 考察了 LD 随时间的动态生成情况. 如图 12(A) 所示, 随油酸诱导 LD 生成时间延长, 探针 TPP-DPAC 的荧光信号逐渐发生由蓝转变为红色, 同时通过对红/蓝( $I_{600}/I_{470}$ )比率型荧光信号的定量结果发现[图 12(B)], 随油酸(OA)处理时间延长, TPP-DPAC 红色荧光强度持续升高, 蓝色荧光强度则对应逐渐降低, 导致红/蓝荧光强度比值随诱导时间增加而增大. 该变化趋势与 LD 模型实验中观察到的红/蓝荧光强度比升高现象一致, 说明 TPP-DPAC 的红蓝光比率型荧光信号变化, 可用于示踪细胞中 LD 的动态形成过程.

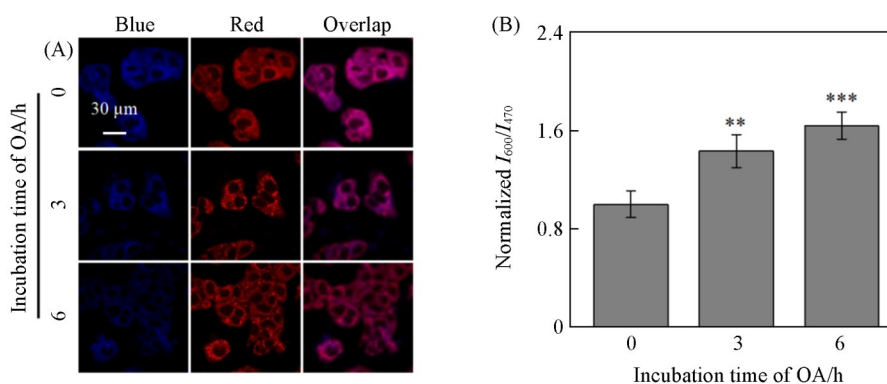


Fig. 12 Fluorescence imaging of HepG2 cells incubated with probe TPP-DPAC(20  $\mu\text{mol/L}$ )(A) and the ratio of the red and blue fluorescence intensity of probe TPP-DPAC pretreated with OA(150  $\mu\text{mol/L}$ ) with time (B)

### 3 结 论

基于亲脂且具有双荧光发射性能的“构象自适”荧光团DPAC<sup>[45,46]</sup>, 通过亲核取代反应在其苯基一侧引入线粒体靶向基团三苯基膦(TPP), 构建了比率型荧光探针TPP-DPAC. 该探针在HepG2细胞及油酸(OA)诱导LD生成的HepG2细胞中, 表现出优异的线粒体靶向及诱导生成LD标记的双重成像标记能力, 且能根据与商用线粒体Tracker的 $R_r$ , 以及荧光成像过程中的探针红/蓝荧光强度比值变化, 动态示踪细胞中的LD生成. 该双成像标记性能的比率型荧光探针可以反映LD的微环境, 为生理或病理条件下LD与线粒体互作研究提供了有效可视化工具, 且可为探索LD与其它细胞器的相互作用提供新的研究思路.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/20250204>.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Chen X., Wu X., Wu H., Zhang M., *Nat. Neurosci.*, **2020**, 23(3), 301—310
- [ 2 ] Zhao Y. G., Zhang H., *Dev. Cell*, **2020**, 55(1), 30—44
- [ 3 ] Yang X. Z., Yao S., Wu J., Diao J., He W., Guo Z., Chen Y., *Smart Molecules*, **2024**, 2(4), e20240040
- [ 4 ] Wang W. J., Mu X., Tan C. P., Wang Y. J., Zhang Y., Li G., Mao Z. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143(30), 11370—11381
- [ 5 ] Dahiwardkar R., Rajput D., Singh D., Soppina V., Kanvah S., *New J. Chem.*, **2023**, 47(21), 10016—10024
- [ 6 ] Riback J. A., Zhu L., Ferrolino M. C., Tolbert M., Mitrea D. M., Sanders D. W., Wei M. T., Kriwacki R. W., Brangwynne C. P., *Nature*, **2020**, 581(7807), 209—214
- [ 7 ] Liu J., Spruijt E., Miserez A., Langer R., *Nat. Rev. Mater.*, **2023**, 8, 139—141
- [ 8 ] Gros F., Muller S., *Nat. Rev. Nephrol.*, **2023**, 19, 366—383
- [ 9 ] Park S. J., Juvekar V., Jo J. H., Kim H. M., *Chem. Sci.*, **2020**, 11(2), 596—601
- [ 10 ] Chauhan N., Koli M., Ghosh R., Majumdar A. G., Ghosh A., Ghanty T. K., Mula S., Patro B. S., *JACS Au*, **2024**, 4(8), 2838—2852
- [ 11 ] Liu X., Chang Y. T., *Chem. Soc. Rev.*, **2022**, 51(5), 1573—1591
- [ 12 ] Dou W., Han H., Sedgwick A. C., Zhu G., Zang Y., Yang X., Yoon J., D. Tony, Li J., He X., *Sci. Bull.*, **2022**, 67(8), 853—878
- [ 13 ] Hu X., Gan H., Gui W., Yan K., Sessler J. L., Yi D., Tian H., He X., *PNAS*, **2024**, 121(37), e2408716121
- [ 14 ] Wang S., Zhou K., Lyu X., Li H., Qiu Z., Zhao Z., Tang B. Z., *CBMI*, **2023**, 1(6), 509—521
- [ 15 ] Li G., Zhang L., Zheng H., Huang L., Li Z., Li W., Lin W., *Anal. Chem.*, **2023**, 95(42), 15795—15802
- [ 16 ] Shi W. J., Yan X. H., Yang J., Wei Y. F., Huo Y. T., Su C. L., Yan J. W., Han D., Niu L., *Anal. Chem.*, **2023**, 95(25), 9646—9653
- [ 17 ] Li S., Wang P., Ye M., Yang K., Cheng D., Mao Z., He L., Liu Z., *Anal. Chem.*, **2023**, 95(11), 5133—5141
- [ 18 ] Wang K. N., Liu L. Y., Mao D., Xu S., Tan C. P., Cao Q., Mao Z. W., Liu B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60(27), 15095—15100
- [ 19 ] Meng F., Niu J., Zhang H., Yang R., Lu Q., Niu G., Liu Z., Yu X., *Anal. Chem.*, **2021**, 93(34), 11729—11735
- [ 20 ] Liu Y., Gong X. T., Wang K. N., He S., Wang Y., Lin Q., Liu Z., Yu X., Liu B., *Mater. Horiz.*, **2024**, 11(14), 3287—3297
- [ 21 ] Chen Y., Li A., Li X., Tu L., Xie Y., Xu S., Li Z., *Adv. Mater.*, **2023**, 35(20), 2211917
- [ 22 ] Dou W. T., Chen W., He X. P., Su J., Tian H., *Faraday Discuss.*, **2017**, 196, 395—402
- [ 23 ] Dou W. T., Qin Z. Y., Li, J., Zhou D. M., He X. P., *Sci. Bull.*, **2019**, 64(24), 1902—1909
- [ 24 ] Dou W. T., Wang X., Liu T., Zhao S., Liu J. J., Yan Y., Li J., Zhang C., Sedgwick A. C., Tian H., Sessler J. L., Zhou D., He X., *Chem*, **2022**, 8(6), 1750—1761
- [ 25 ] Hu X. L., Gan H. Q., Qin Z. Y., Liu Q., Li M., Chen D., Sessler J. L., Tian H., He X. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145(16), 8917—8926
- [ 26 ] Zhang Z., Sun G., Chen W., Su J., Tian H., *Chem. Sci.*, **2020**, 11(29), 7525—7537
- [ 27 ] Chen X., Yuan S., Qiao M., Jin X., Chen J., Guo L., Su J., Qu D. H., Zhang Z., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145(48), 26494—26503
- [ 28 ] Xu W. T., Li X., Wu P., Li W. J., Wang Y., Xu X. Q., Wang X. Q., Chen J., Yang H. B., Wang W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2024**, 63(12), e202319502
- [ 29 ] Ramos-Soriano J., Benitez-Benitez S. J., Davis A. P., Galan M. C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60(31), 16880—16884
- [ 30 ] Toldo J., El Bakouri O., Solà M., Norrby P. O., Ottosson H., *ChemPlusChem*, **2019**, 84(6), 712—721
- [ 31 ] Zhang Z., Wu Y. S., Tang K. C., Chen C. L., Ho J. W., Su J., Tian H., Chou P. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137(26), 8509—8520
- [ 32 ] Gong J., Wei P. F., Liu J., Chen Y., Zhao Z., Zhao W., Xie H., Ma C., Lam J. W. Y., Wong K. S., Li Y., Tang B. Z., *Aggregate*, **2023**, 4(2), e265.
- [ 33 ] Huang W., Sun L., Zheng Z., Su J., Tian H., *Chem. Commun.*, **2015**, 51(21), 4462—4464
- [ 34 ] Chen J., Wu Y., Wang X., Yu Z., Tian H., Yao J., Fu H., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2015**, 17(41), 27658—27664
- [ 35 ] Sun G., Zhou H., Liu Y., Li Y., Zhang Z., Mei J., Su J., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10(23), 20205—20212

- [36] Zheng Z., Dong Q., Gou L., Su J. H., Huang J., *J. Mater. Chem. C*, **2014**, 2(46), 9858—9865
- [37] Humeniuk H. V., Rosspeintner A., Licari G., Kilin V., Bonacina L., Vauthey E., Sakai N., Matile S., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57(33), 10559—10563
- [38] Wang S., Zhou B., Wang N., Yu C., Yang N., Chen J., Wu Q., Zhang C., Li L., Huang W., *Chinese Chem. Lett.*, **2020**, 31(11), 2897—2902
- [39] Zielonka J., Joseph J., Sikora A., Hardy M., Ouari O., Vasquez-Vivar J., Cheng G., Lopez M., Kalyanaraman B., *Chem. Rev.*, **2017**, 117(15), 10043—10120
- [40] Chen X. C., Tang G. X., Luo W. H., Shao W., Dai J., Zeng S. T., Huang Z. S., Chen S. B., Tan J. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143(49), 20779—20791
- [41] Liu Y., Li X., Shi W., Ma H., *Chem. Commun.*, **2022**, 58(92), 12815—12818
- [42] Li H., Shi W., Li X., Hu Y., Fang Y., Ma H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141(45), 18301—18307
- [43] Wan W., Zeng L., Jin W., Chen X., Shen D., Huang Y., Wang M., Bai Y., Lyu H., Dong X., Gao Z., Wang L., Liu X., Liu Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 133(49), 26069—26075
- [44] Weidlich D., Honecker J., Gmach O., Wu M., Burgkart R., Ruschke S., Franz D., Menze B. H., Skurk T., Hauner H., Kulozik U., Karampinos D. C., *Magn. Reson. Med.*, **2019**, 81(6), 3427—3439
- [45] Hu X. L., Gan H. Q., Qin Z. Y., Liu Q., Li M., Chen D. J., Sessler J. L., Tian H., He X. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145(16), 8917—8926
- [46] Dou W. T., Wang X., Liu T., Zhao S., Liu J. J., Yan Y., Li J., Zhang C. Y., Sedgwick A. C., Tian H., Sessler J. L., Zhou D. M., He X. P., *Chem*, **2022**, 8(6), 1750—1761

(Ed.: F, K)