

雌二醇喹啉缀合物合成及对 Zn^{2+} 荧光识别性能

展军颜*, 赵杰, 甘春芳*, 黄燕敏

(南宁师范大学 广西天然高分子化学与物理重点实验室, 广西 南宁 530001)

摘要: 将荧光基团 8-羟基喹啉偶联到雌二醇结构中, 制备缀合喹啉的雌二醇分子探针 (C)。通过核磁共振氢谱、碳谱及高分辨质谱对其结构进行了表征。荧光数据表明 Zn^{2+} 使雌二醇分子在 445 nm 处的荧光增强 10.3 倍, 而 Cd^{2+} 仅为 2.4 倍。在 Zn^{2+} 浓度为 $2 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L 范围内呈良好的线性关系, 雌二醇分子与 Zn^{2+} 的配合常数为 $3.75 \times 10^4 M^{-1}$; 检测限低至 2.18×10^{-6} mol/L。Job 曲线和配合物质谱证实探针 C 与 Zn^{2+} 配合比为 1:1, 核磁滴定和参照分子实验进一步证实 C 通过喹啉环和酯基与 Zn^{2+} 配位。

关键词: 荧光探针; 雌二醇; 锌离子; 喹啉; 荧光增强

中图分类号: O629 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2025)02-0033-06

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0421

Synthesis of Estradiol Quinoline Conjugate and Fluorescent Recognition to Zn^{2+} ZHAN Jun-yan*, ZHAO Jie, GAN Chun-fang*, HUANG Yan-min (Guangxi Key Laboratory of Natural Polymer Chemistry and Physics, Nanning Normal University, Nanning 530001, China)

Abstract: A molecular probe (C) of quinoline conjugated estradiol was prepared by coupling the fluorescent group of 8-hydroxyquinoline. The chemical structure was confirmed by 1H NMR, ^{13}C NMR and HREI-MS. The results based on tests showed the fluorescence intensity of the probe at 445 nm could increase by 10.3 times in the present of Zn^{2+} , while enhance by only 2.4 times for Cd^{2+} . A linear relationship between the fluorescence intensity and Zn^{2+} concentration in the range of $2 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L was obtained with a binding constant of $3.75 \times 10^4 M^{-1}$ and a limit of detection of 2.18×10^{-6} mol/L. The binding ratio of probe C to Zn^{2+} was 1:1 by Job plot analysis and further confirmed by HRMS analysis. The possible binding mechanism mainly involved the coordination between quinoline/ester groups of probe C and Zn^{2+} using 1H NMR titrations and reference molecular recognition performance.

Key words: fluorescent probe; estradiol; Zn^{2+} ion; quinoline; fluorescence enhancement

金属离子广泛分布于自然界和生物体内, 在生命科学和化学过程中扮演着重要的角色。当金属离子在自然界或生物体内处于一个相对稳定的状态时, 其对环境 and 生命过程起着积极的作用, 但当其含量过多或过少, 就会给自然界和生物体带来一系列负面影响^[1]。锌是人体必需的微量元素之一, 其在人体的含量仅次于铁。 Zn^{2+} 在调节机体代谢、维持人体正常生理功能等多种生理过程中有着非常重要的作用^[2,3]。缺锌会引起消化不良、食欲不振, 儿童缺锌会影响身体发育。锌离子过量也会导致一些严重的疾病, 比如阿尔茨海默病、帕金森氏病、癫痫症等^[4]。对 Zn^{2+} 的检测引起了研究者的关注。与传统的测定 Zn^{2+} 的方法相比, 荧光光谱法因其响应快、信号可见性强、操作简便、分析量大等优点而受到越来越多的关注^[5-7]。

甾体由于其具有独特的立体结构, 是构筑人工受体的理想结构单元^[8-11]。很多国内外学者研究不同甾核结构的受体对金属离子的识别性能。

Pandey 等^[12]通过点击化学设计合成了一种基于胆汁酸和杯芳烃骨架的探针, 对多种金属离子具有识别性能。Zhong 等^[13]设计合成偶联罗丹明染料的胆固醇荧光探针, 该探针对 Cu^{2+} 表现出荧光增强的响应。Wu 等^[14]设计合成了一系列去氧胆酸骨架多功能荧光探针, 并研究其对不同离子和手性分子的识别能力。Zhang 等^[15]利用点击化学将罗丹明类荧光团偶联到脱氧胆酸骨架上, 合成的荧光探针可选择性识别 Fe^{3+} , 并可以实现对 PPI 的二次检测。大部分学者选择胆甾酸和胆固醇作为分子骨架, 因此设计和合成具有高选择性、

收稿日期: 2024-09-29; 修回日期: 2024-11-21

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFAA159164; 2023GXNSFAA026399; 2023GXNSFDA026063)。

作者简介: 展军颜 (1982-), 女, 广西南宁人, 博士, 副教授, 主要研究方向为主客体识别及功能界面材料研究。

通讯作者: 展军颜, E-mail: zhanjunyan@126.com; 甘春芳, E-mail: ganchunfang2008@126.com。

高灵敏度的其他甾核结构的荧光探针亟待更深入的研究。雌二醇类化合物具有良好的生物活性^[16]和生物相容性,具有独特的立体结构,3 位酚羟基和 17 位羟基可以作为修饰位点,易于衍生化,引入识别位点和荧光基团,是构筑人工受体的理想分子骨架。

8-羟基喹啉具有较大的 π - π^* 共轭体系,是一种良好的荧光基团,既可以作为信号输出基团,还可作为识别基团^[17,18]。而喹啉环上的氮原子易于与金属离子发生配合作用,通过荧光信号的改变来实现对金属离子的检测。本文设计合成了 8-羟基喹啉缀合的雌二醇分子 C。光谱实验研究发现该探针可作为 Zn^{2+} 的荧光增强型探针,与荧光淬灭型的探针相比,具有更广泛的应用。此外,该研究也丰富了基于雌二醇骨架的功能分子在识别性能方面的研究。雌二醇的分子 C 合成路线如图 1 所示。

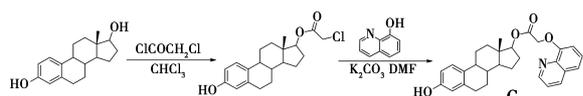


图 1 探针 C 的合成路线

Fig.1 Synthetic route of the probe C

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

F-4600 型荧光分光光度计(日立有限公司); Practum224-1CN 型电子精密分析天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司); AVANCE NEO 400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司)。

石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇、氯乙酰氯、乙腈、碳酸钾、胆固醇、8-羟基喹啉(国药集团化学试剂有限公司); 无水硫酸钠、硝酸锂、氯化钠、硝酸钾、氯化镁、氯化钙、氯化钡、硝酸铁、硫酸亚铁、硝酸铬、硝酸镍、硝酸锌、氯化铜、氯化锰、硝酸镉、硝酸银、硝酸钴、硝酸铝(上海麦克林生化科技股份有限公司)。所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 中间体氯代雌二醇的制备

取 1.089 g(4 mmol)雌二醇溶于 5 mL 氯仿,再向其中加入 0.833 mL(6 mmol)三乙胺冰浴搅拌 30 min,取 0.955 mL(12 mmol)氯乙酰氯溶于 5 mL 氯仿中,1 h 内滴加至冷却搅拌液中,室温反应 4 h,粗产物用氯仿萃取 3 次,萃取液用水、饱和食盐水洗涤 2 次,合并有机相,加无水硫酸钠干

燥,经柱层析分离(洗脱剂为 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=15:1),得 1.284 g 白色固体,即为中间产物氯代雌二醇,产率 92%。¹HNMR($CDCl_3$, 400 MHz), δ : 7.14(d, 1H, J =8.4 Hz); 6.63(dd, 1H, J =8.4, 2.8 Hz); 6.56(d, 1H, J =2.7 Hz); 4.84(s, 1H); 4.78(dd, 1H, J =9.2, 7.7 Hz); 4.07(s, 2H); 2.85~2.80(m, 2H); 0.85(s, 3H)。¹³CNMR($CDCl_3$, 100 MHz), δ : 167.52, 153.41, 138.16, 132.42, 126.55, 115.28, 112.75, 84.71, 49.69, 43.74, 43.20, 41.14, 38.53, 36.82, 29.56, 27.43, 27.15, 26.17, 23.24, 12.04。HREIMS, $C_{20}H_{26}ClO_3$, 实测值(计算值), m/z : 345.157 6(345.157 0) $[M+H]^+$ 。

1.2.2 探针 C 的合成步骤

将 0.244 g(0.7 mmol)氯代雌二醇、0.087 g(0.6 mmol)8-羟基喹啉、0.498 g(3.6 mmol)无水碳酸钾溶于 20 mL 干燥乙腈,在氩气保护下回流 8 h。停止反应,冷却至室温。减压蒸馏除去溶剂,将得到的粗产物溶于 20 mL 乙酸乙酯,用饱和食盐水洗涤,每次加入 20 mL,洗涤 2 次,用无水硫酸钠干燥,经柱层析分离(洗脱剂为 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=6:1),得 0.154 g 白色固体,即为喹啉雌二醇探针 C,产率 63%。¹HNMR($CDCl_3$, 400 MHz), δ : 8.92(dd, 1H, J =4.4, 1.4 Hz); 8.16(dd, 1H, J =8.3, 1.7 Hz); 7.47~7.43(m, 3H); 7.07(d, 1H, J =8.5 Hz); 6.97(dd, 1H, J =5.0, 4.0 Hz); 6.76(dd, 1H, J =8.4, 2.2 Hz); 6.62~6.59(m, 1H); 4.94(s, 2H); 4.85(dd, 1H, J =9.2, 7.8 Hz); 2.80~2.76(m, 2H); 0.63(s, 3H)。¹³CNMR($CDCl_3$, 100 MHz), δ : 168.92, 154.39, 153.54, 149.23, 139.76, 137.89, 136.31, 131.58, 129.65, 126.48, 126.31, 121.89, 120.70, 115.48, 112.99, 109.19, 83.71, 65.81, 49.71, 43.72, 43.20, 38.56, 36.81, 29.57, 27.28, 27.20, 26.24, 23.19, 11.88。HREIMS, $C_{29}H_{32}NO_4$, 实测值(计算值), m/z : 458.238 2(458.233 1) $[M+H]^+$ 。

化合物 4、5 的合成步骤与探针 C 类似,结构式见图 2。

(13S)-3-羟基-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊[a]菲-17-基喹啉-8-基甘氨酸酯(4, 产率 56%):¹HNMR($CDCl_3$, 400 MHz), δ : 8.75(dd, 1H, J =4.2, 1.7 Hz); 8.06(dd, 1H, J =8.3, 1.7 Hz); 7.40~7.35(m, 2H); 7.11(dd, 2H, J =8.1, 1.2 Hz); 6.71(s, 1H); 6.63~

6.59(m, 2H); 6.55(d, 1H, $J=2.8$ Hz); 5.03(s, 1H); 4.80(dd, 1H, $J=9.2, 7.7$ Hz); 4.14(d, 2H, $J=4.9$ Hz); 2.82~2.78(m, 2H); 0.73(s, 3H)。¹³CNMR(CDCl₃, 100 MHz), δ : 170.99, 153.46, 147.27, 143.94, 138.36, 138.14, 135.97, 132.43, 128.63, 127.51, 126.53, 121.54, 115.27, 115.12, 112.72, 105.19, 83.66, 49.69, 45.76, 43.74, 43.07, 38.54, 36.82, 29.57, 27.52, 27.16, 26.17, 23.27, 11.96。HREIMS, C₂₉H₃₃N₂O₃, 实测值(计算值), m/z : 457.253 4(457.249 1) [M+H]⁺。

(13S)-3-羟基-13-甲基-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-十氢-6H-环戊[a]菲-17-基-2-(萘-1-基氧基)乙酸酯(5, 产率 59%): ¹HNMR(CDCl₃, 600 MHz), δ : 8.38~8.35(m, 1H); 7.82~7.79(m, 1H); 7.51~7.49(m, 2H); 7.47(d, 1H, $J=8.2$ Hz); 7.35(t, 1H, $J=7.9$ Hz); 7.13(dd, 1H, $J=8.4, 1.1$ Hz); 6.73(dd, 1H, $J=7.7, 0.9$ Hz); 6.62(dd, 1H, $J=8.4, 2.8$ Hz); 6.55(d, 1H, $J=2.7$ Hz); 4.84(d, 2H, $J=1.2$ Hz); 4.61(s, 1H); 2.83~2.79(m, 2H); 0.73(s, 3H)。¹³CNMR(CDCl₃, 150 MHz), δ : 169.01, 153.73, 153.32, 138.18, 134.60, 132.51, 127.41, 126.62, 126.57, 125.62, 125.49, 125.47, 122.19, 121.33, 115.24, 112.68, 104.93, 83.80, 65.78, 49.67, 43.72, 43.09, 38.50, 36.80, 29.56, 27.49, 27.14, 26.15, 23.27, 11.98。HREIMS, C₃₀H₃₂KO₄, 实测值(计算值), m/z : 495.195 0(495.193 8) [M+K]⁺。

1.2.3 溶液的配制和测试方法

探针 C (1×10^{-5} mol/L) 的乙醇溶液的配制: 称适量探针 C 溶于 10 mL 无水乙醇中, 配制成 2×10^{-3} mol/L 的溶液。将 2×10^{-3} mol/L 的上述溶液稀释成 1×10^{-5} mol/L 备用。

将 Cr(NO₃)₃·9H₂O、Ni(NO₃)₂·6H₂O、Fe(NO₃)₃·9H₂O、Cd(NO₃)₂·4H₂O、AgNO₃、Co(NO₃)₂·6H₂O、Al(NO₃)₃·9H₂O、Zn(NO₃)₂·6H₂O、FeSO₄·7H₂O、CuCl₂·2H₂O、MnCl₂·4H₂O、LiNO₃、NaCl、KNO₃、MgCl₂、CaCl₂、BaCl₂·2H₂O、Hg(NO₃)₂ 配制成 5.0×10^{-3} mol/L 的金属离子乙醇溶液备用。

探针 C 对金属离子的检测条件: 向 4 mL (1×10^{-5} mol/L) 探针 C 乙醇溶液中依次加入不同浓度的金属离子溶液, 加入金属离子溶液的体积不超过 100 mL。以乙醇为空白对照, 混合均匀, 进行荧光光谱测试。荧光测试条件: 激发波长为

310 nm, 狭缝: E_x 为 5 nm、 E_m 为 5 nm。

1.2.4 单晶 X 射线衍射

为研究探针的结构, 采用溶剂挥发法培养探针 C、化合物 4 和 5 的晶体, 结构见图 2。将 0.228 g (0.5 mmol) 化合物 5 溶解在 10 mL 乙酸乙酯和 2 mL 石油醚的混合液中, 静置数天后有白色晶体析出。选取合适尺寸的晶体, 置于 Super Nova Dual Cu at zero AtlasS2 单晶衍射仪上, 在 169.99(10) K 下进行单晶 X 射线衍射分析, 采用经石墨单色化的 Mo K α 辐射 ($\lambda=0.071\ 073$ nm) 作为衍射光源。使用 Olex2 软件和 SHELXS 程序解出晶体分子结构, 用 SHELXL 程序对全部非氢原子坐标及其各向异性热参数进行全矩阵最小二乘法精修, 氢原子均为理论加氢。化合物 5 的晶体学数据见表 1 (CCDC: 2382637)。

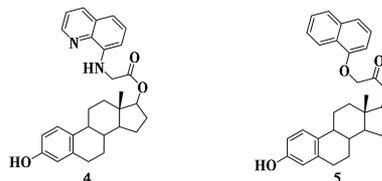


图 2 化合物 4、5 的分子结构图

Fig.2 Molecular structures of compounds 4, 5

表 1 化合物 5 的晶体学数据

Tab.1 Crystallographic datas of compound 5

Parameter	compound 5	Parameter	compound 5
Empirical formula	C ₃₀ H ₃₂ KO ₄	Crystal size/mm ³	0.14×0.13×0.1
Formula weight(<i>M</i>)	456.55	Index ranges	-9 ≤ <i>h</i> ≤ 11, -14 ≤ <i>k</i> ≤ 20, -31 ≤ <i>l</i> ≤ 51
Temperature/K	169.99(10)	Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Crystal system	orthorhombic	<i>a</i> /Å	8.266 9(3)
Independent reflections	11 380	<i>b</i> /Å	14.960 2(6)
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.035	<i>c</i> /Å	38.854 3(18)
Final <i>R</i> indexes [<i>I</i> ≥ 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.062 1, <i>wR</i> ₂ = 0.118 6	β /°	90
Final <i>R</i> indexes [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.093 4, <i>wR</i> ₂ = 0.135 5	Volume/Å ³	4 805.3(3)
		<i>Z</i>	8
		$\rho_{\text{calc}}/(g \cdot \text{cm}^{-3})$	1.262
		<i>D_c</i> /(Mg·m ⁻³)	1.262
		Absorption coefficient/mm ⁻¹	0.082
		<i>F</i> (000)	1 952.0

2 结果与讨论

2.1 结构分析

探针 C 的结构分析如下: 从核磁氢谱(图 3)可以看出, 在 δ 4.94 处有一个明显的 2H 单峰, 可

以归属为 $-\text{COCH}_2\text{O}-$ 的亚甲基峰;在 δ 0.63 处出现 1 个单峰,其积分面积为 3,归属为雌二醇骨架 18-位的 $-\text{CH}_3$ 峰;在 δ 8.96、8.16、7.47~7.43、7.07、6.97、6.76、6.62~6.59 处出现的氢为喹啉环上及雌二醇母环上的,质谱数据也进一步证实喹啉环成功连接到雌二醇骨架上。化合物 5 的晶体结构(图 4)进一步证实衍生化的位点在雌二醇的 17 位。对比化合物 4、5 和探针 C 17 位 C—H 质子,它们都表现出三重峰,化学位移值非常相似,分别出现 δ 4.80、4.84、4.85。上述结果说明雌二醇的 17 位发生衍生化。

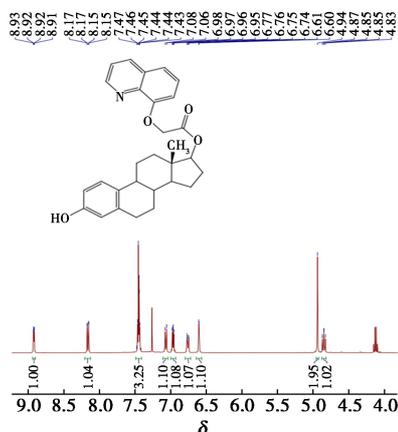


图 3 探针 C 的部分核磁氢谱

Fig.3 Partial ^1H NMR spectra of the probe C

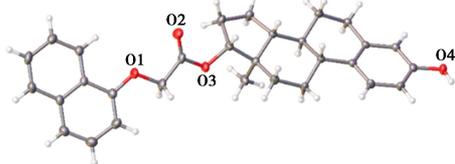


图 4 化合物 5 的 50% 概率晶体结构椭球图

Fig.4 Crystal structure of compound 5 shown as ellipsoids with 50% probability

2.2 喹啉雌二醇探针 C 对金属离子的识别

分别在 4 mL (1×10^{-5} mol/L) 探针 C 乙醇溶液,依次加入 80 mL (5.0×10^{-3} mol/L) 的 18 种不同金属离子 (Cr^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Co^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Hg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ag^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Li^+),混合均匀,进行荧光光谱测试。测试条件:激发波长为 310 nm,狭缝: E_x 为 5 nm、 E_m 为 5 nm。结果如图 5 所示,加入 Zn^{2+} 使缀合喹啉的雌二醇化合物探针 C 在 445 nm 处的荧光明显增强,其强度增强了 10.3 倍,而 Cd^{2+} 仅为 2.4 倍,这可能是 Zn^{2+} 与喹啉雌二醇探针 C 的配位作用产生了螯合荧光增强 (CHEF) 效应^[19]。 Cr^{3+} 、

Al^{3+} 、 Fe^{3+} 的加入导致雌二醇化合物 C 发生明显的红移,红移约 50 nm,但荧光强度较弱。而剩余的其他金属离子对雌二醇化合物 C 的荧光影响不大。由此可见,根据峰位和荧光强度的差异,喹啉雌二醇探针 C 可以选择性识别 Zn^{2+} 。

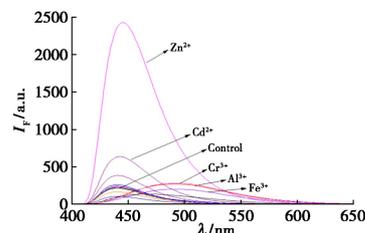


图 5 在 1×10^{-5} mol/L 的探针 C 分子中加入 10 倍的上述 18 种不同金属离子后的荧光光谱图

Fig.5 Fluorescence spectra of the probe C

(1×10^{-5} mol/L) in the presence of 18 different metal ions with 10 times

2.3 探针 C 与 Zn^{2+} 的荧光滴定实验

在浓度为 1×10^{-5} mol/L 的喹啉雌二醇探针 C 中分别加入 0~10 倍的 Zn^{2+} ,荧光光谱变化如图 6 所示,激发波长为 310 nm,随着 Zn^{2+} 浓度的增加,探针 C 在 445 nm 处的荧光显著增强。当浓度为 1×10^{-4} mol/L (即 10 倍) 时,与空白相比,荧光强度增强 10.3 倍。以 $1/(I-I_0)$ 对 $1/[\text{Zn}^{2+}]$ 作图(图 7),当加入 Zn^{2+} 浓度在 $2 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L

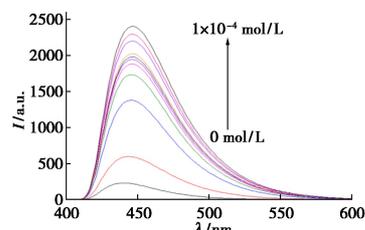
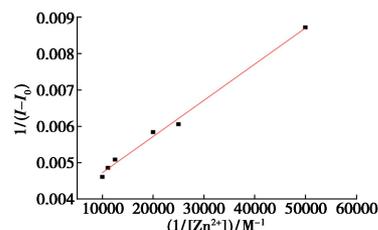


图 6 探针 C (1×10^{-5} mol/L) 加入不同浓度 ($1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L) Zn^{2+} 的荧光光谱图

Fig.6 Fluorescence spectra of the probe C (1×10^{-5} mol/L) with different concentrations ($1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L) Zn^{2+}



I_0 为探针 C 的荧光强度, I 为加入不同浓度的 Zn^{2+} 的荧光强度

图 7 $1/(I-I_0)$ 对 $1/[\text{Zn}^{2+}]$ 的线性图

Fig.7 Plot of $1/(I-I_0)$ versus $1/[\text{Zn}^{2+}]$

时, $[1/(I-I_0)]$ 值和 $1/[Zn^{2+}]$ 之间具有良好的线性关系, 它们之间的线性方程为 $y=9.953 \times 10^{-9}x+3.729 \times 10^{-4}$, 线性相关性 $R^2=0.9927$, 配合常数 $K=3.75 \times 10^4 M^{-1}$ 。利用公式 $LOD=3\sigma/k$, 计算得出检测限为 $2.18 \times 10^{-6} mol/L$ 。由此可知, 喹啉雌二醇化合物探针 C 可以实现对 Zn²⁺ 高灵敏度的检测。

为了比较 Cd²⁺ 对探针 C 荧光的影响, 进行探针 C 与 Cd²⁺ 的荧光滴定实验。如图 8 所示, 5 倍的 Cd²⁺ 使其荧光强度增强 1.9 倍, 10 倍的 Cd²⁺ 仅为 2.4 倍。可见, Zn²⁺ 使探针 C 的荧光增强更显著。当加入 Cd²⁺ 浓度在 $2 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-4} mol/L$ 时, $[1/(I-I_0)]$ 值和 $1/[Cd^{2+}]$ 之间具有良好的线性关系, 根据 Benesi-Hildebrand 方程计算配合常数为 $1.06 \times 10^4 M^{-1}$ (图 9)。探针 C 与 Zn²⁺ 的配合

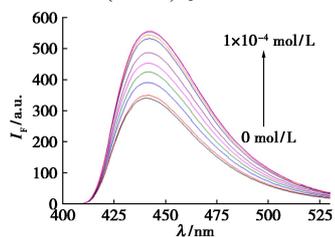
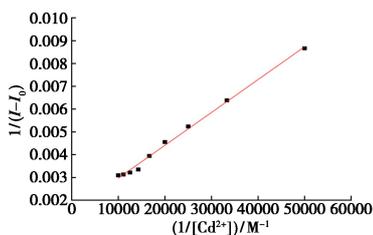


图 8 在探针 C ($1 \times 10^{-5} mol/L$) 中加入不同浓度 Cd²⁺ ($0 \sim 1 \times 10^{-4} mol/L$) 的荧光光谱图

Fig.8 Fluorescence spectra of the probe C ($1 \times 10^{-5} mol/L$) with different Cd²⁺ concentrations ($0 \sim 1 \times 10^{-4} mol/L$)



I_0 为探针 C 的荧光强度, I 为加入不同浓度的 Cd²⁺ 的荧光强度

图 9 $1/(I-I_0)$ 对 $1/[Cd^{2+}]$ 的线性图

Fig.9 Plot of $1/(I-I_0)$ versus $1/[Cd^{2+}]$

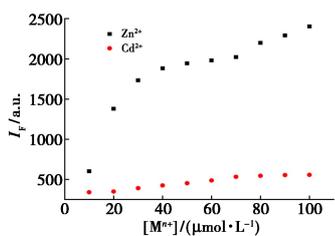


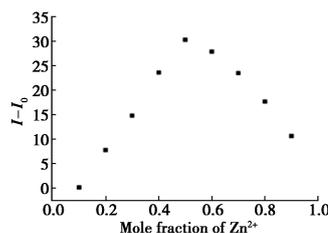
图 10 不同浓度的 Zn²⁺ 和 Cd²⁺ 对探针 C 的荧光强度点状图

Fig.10 Plot of fluorescence intensity of probe C for the different concentrations of Zn²⁺ and Cd²⁺

常数约为 Cd²⁺ 的 3 倍。从图 10 也可以看出, 与 Cd²⁺ 相比, Zn²⁺ 使探针 C 的荧光增强更显著。可见, 探针 C 对 Zn²⁺ 表现出更强的配合能力。

2.4 喹啉雌二醇探针 C 与 Zn²⁺ 的配合模式

Job 法是研究主客体配合比的有效方法。图 11 是探针 C 与 Zn²⁺ 作用的 Job 曲线。当 Zn²⁺ 与探针 C 的物质的量达到 0.5 时, 主体荧光强度的差值达到最大, 这说明探针 C 与 Zn²⁺ 形成配合比为 1:1 的配合物。



探针 C、Zn²⁺ 的总浓度为 $2 \times 10^{-5} mol/L$

图 11 探针 C 与 Zn²⁺ 作用的 Job 曲线

Fig.11 Job plots of the probe C toward Zn²⁺

将喹啉雌二醇探针 C 溶解在乙醇溶液中, 加少量三乙胺 (协助配位), 搅拌 1 h, 旋干溶剂后测质谱。质谱数据如图 12 所示, 配合物的分子量为 685.444 6, 为 $[Probe\ C-H+Zn+N(CH_2CH_3)_3+EtOH+H_2O]^+$, 与理论值 685.319 5 相一致, 进一步证实了主体分子 C 与 Zn²⁺ 配位比为 1:1。

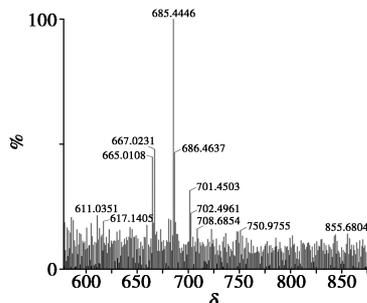


图 12 探针 C 与 Zn²⁺ 配合物的质谱

Fig.12 Mass spectrometry of the probe C and Zn²⁺ complex

为了探讨探针 C 与 Zn²⁺ 的识别机理, 将探针 C 中的羟基喹啉换成氨基喹啉或萘酚, 合成化合物 4、5 (图 2)。荧光检测实验发现, 化合物 4、5 对所检测的金属离子并未表现出荧光识别性能, 这也证明喹啉中氮原子和氧原子在识别金属离子中发挥了重要的作用。

为了进一步研究 Zn²⁺ 与喹啉胆固醇探针 C 的具体作用模式, 进行了主客体核磁滴定实验。将探针 C 溶解在 $V(CDCl_3):V(MeOD)=1:1$ 的溶

剂中,其浓度为 50 mmol/L,加入 0.2、0.4、0.6、0.8、1 倍浓度的高氯酸锌,对比核磁信号变化。如图 13 所示,随着高氯酸锌的增加,喹啉环上的氢逐渐向低场移动。当加入 1 倍的高氯酸锌时,喹啉环上 H1 向低场移动 δ 0.04, H3 变化显著,分别向低场移动 δ 0.29。H2、H4、H5 原本是耦合在一起的,加入锌离子后,不仅向低场移动,并逐渐发生明显的裂分。与酯基中羰基相连的亚甲基上的氢 H7 变化最明显,向低场移动了 δ 0.10。由此可见,探针 C 中喹啉基团中的 N 原子、O 原子与酯基的 O 原子均参与了探针 C 与 Zn^{2+} 的配位配合。这种金属配位作用导致探针分子荧光增强,存在螯合荧光增强 (CHEF) 效应^[19]。结合上述核磁滴定数据和探针 C 与 Zn^{2+} 配合物的质谱数据分析,其可能的结合机理如图 14 所示。

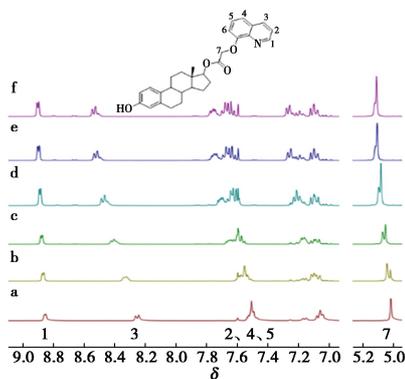


图 13 单独的探针 C (50 mmol/L) (a) 与 0.2 倍 (b)、0.4 倍 (c)、0.6 倍 (d)、0.8 倍 (e)、1 倍 (f) 的 $Zn(ClO_4)_2$ 相互作用的 1H NMR 滴定光谱 ($V(CDCl_3) : V(MeOD) = 1 : 1$)

Fig.13 1H NMR titration spectra of the probe C (50 mmol/L) (a) in $V(CDCl_3) : V(MeOD) = 1 : 1$ in the presence of 0.2 time (b), 0.4 times (c), 0.6 times (d), 0.8 times (e), and 1.0 times (f) of $Zn(ClO_4)_2$



图 14 探针 C 与 Zn^{2+} 的可能的结合机理示意图
Fig.14 Possible binding mechanism diagram of probe C and Zn^{2+}

3 结论

在雌二醇的 17 位缀合喹啉设计合成荧光探针 C,加入 Zn^{2+} 使探针 C 的荧光增强 10.3 倍,可实现对 Zn^{2+} 的选择性识别。通过荧光滴定实验可知探针 C 与 Zn^{2+} 离子的配合常数为 3.75×10^4

M^{-1} ,检测限低至 2.18×10^{-6} mol/L。Job 曲线和配合物的质谱数据证实探针 C 与 Zn^{2+} 形成 1:1 的配合物。核磁滴定进一步说明了探针 C 与 Zn^{2+} 离子的配合模式。结果表明, Zn^{2+} 与探针 C 中的喹啉中 N 原子和 O 原子、酯基中的 O 原子协同配位,这种 CHEF 效应导致探针 C 的荧光增强。

参考文献:

- [1] Yuen L H, Franzini R M, Wang S, Crisalli P, Kool E T. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **53**:5 361-5 365.
- [2] Berg J M, Shi Y. *Science*, 1996, **271**:1 081-1 085.
- [3] Kumar V, Kuma A, Singh K. *Eur. J. Nutr.*, 2021, **60**:55-64.
- [4] Xie X M, Smart T G. *Nature*, 1991, **349**:521-524.
- [5] Li Y Y, Song R J, Zhao J C, Liu Y, Zhao J Y. *Polyhedron*, 2023, **234**:116 336-116 342.
- [6] Tayade K, Sahoo S K, Bbondhopadhyay B, Bhardwaj V K, Singh N, Basu A, Bendre R, Kuwar A. *Biosens. Bioelectron.*, 2014, **61**:429-433.
- [7] Malini N, Franc P, Aravind M K, Gayathri S, Balasubramaniam A, Siva A. *J. Mol. Struct.*, 2023, **1 281**:134 991-135 001.
- [8] Muwal P K, Pandey S, Pandey P S. *RSC Adv.*, 2014, **4**:21 531-21 534.
- [9] Gan C F, Lin Q F, Cui J G, Jidan F, Jinni J, Liao H Y, Huang Y M. *Steroids*, 2014, **79**:37-43.
- [10] Wu J D, Zhao X, Gao Y X, Hu J, Ju Y. *Sens. Actuat. B*, 2015, **221**:334-340.
- [11] Wu J D, Lu J R, Gao Y X, Hu J, Ju Y. *Sens. Actuat. B*, 2015, **206**:516-523.
- [12] Jaiswal M K, Muwal P K, Pandey S, Pandey P. *Tetrahedron Lett.*, 2017, **58**(22):2 153-2 156.
- [13] Zhong C L, Qiu J W, Liu M, Yuan Y F, Zhu H, Gao Y. *J. Photochem. Photobiol. A-Chem.*, 2021, **414**:113 267-113 274.
- [14] Wu J D, Lu J R, Liu J G, Zheng C H, Gao Y X, Hu J, Ju Y. *J. Sens. Actuat. B: Chem.*, 2017, **241**:931-937.
- [15] Zhang Z, Deng C Q, Zou Y, Chen L. *J. Photochem. Photobiol. A-Chem.*, 2018, **356**:7-17.
- [16] Huang Y M, Peng Z N, Wei M Z, Gan C F, Zhang Y F, Chen S J, Xiao J A, Cui J G. *Steroids*, 2022, **181**:108 992-108 998.
- [17] Fu Z H, Qin J C, Wang Y W, Peng Y, Zhang Y M, Zhao D M, Zhang Z H. *Dyes Pigments*, 2021, **185**:108 896-108 903.
- [18] Mishra S, Singh A K. *Spectrochim. Acta Part A*, 2022, **270**:120 832-120 849.
- [19] Liu X Y, Wang P, Fu J X, Yao K, Xue K, Xu K X. *J. Luminescence*, 2017, **186**:16-22.