

· 快递论文 ·

5-(4-羟基-3-硝基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉结构 高选择性苯硫酚荧光探针的研究

付秀芳^{1a}, 陈冠凡^{1a,1b,1c*}, 成奋明^{1a,1b,1c}, 李媛媛^{1a}, 时统昊^{1a}, 曾荣今^{1a,1b,1c*}

(1. 湖南科技大学 a. 化学化工学院, b. 理论有机化学与功能分子教育部重点实验室,

c. 精细聚合物可控制备及功能应用湖南省重点实验室, 湖南 湘潭 411201)

摘要: 基于卟啉为荧光发色团, 以 2,4-二硝基苯磺酰氯为识别部分, 设计并合成了一种具有较高选择性、高灵敏度的近红外苯硫酚荧光探针, 其结构经 ¹H NMR, IR 和 HR-MS(ESI) 表征。并研究了其荧光性能。结果表明: 该探针可快速(90 s)、高选择性地检测苯硫酚, 在 $5 \times 10^{-6} \sim 13 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系, 检出限为 61 nm。

关键词: 卟啉化合物; 合成; 荧光探针; PET; 苯硫酚

中图分类号: O615.4

文献标志码: A

DOI: 10.15952/j.cnki.cjsc.1005-1511.2018.09.18047

Study of Highly Selective Thiophenol Fluorescent Probe Based on 5-(4-Hydroxyl-3-nitrophenenyl)-10,15,20-triphenyl-porphyrin

FU Xiu-fang^{1a}, CHEN Guan-fan^{1a,1b,1c*}, CHENG Fen-ming^{1a,1b,1c},

LI Yuan-yuan^{1a}, SHI Tong-hao^{1a}, ZENG Rong-jin^{1a,1b,1c*}

(a. School of Chemistry and Chemical Engineering;

b. Key Laboratory of Theoretical Organic Chemistry and Function Molecule of Ministry of Education;

c. Hunan Provincial Key Laboratory of Controllable Preparation and Functional Application of Fine Polymers,

1. Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract: A kind of near infrared thiophenol fluorescent probe with high selectivity and sensitivity was synthesized, based on the excellent performance of porphyrins fluorescence chromophore, with 2,4-dinitrobenzenesulfonyl chloride as recognition part. The structure was characterized by ¹H NMR, IR and HR-MS(ESI). The fluorescence property was investigated. The results showed that this fluorescent probe exhibited efficient, and sensitive detection for thiophenol, with a good linear relationship in the concentration range of $5 \times 10^{-6} \sim 13 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the detection limit was 61 nm.

Keywords: porphyrin compound; synthesis; fluorescent sensor; PET; thiophenol

苯硫酚(PhSH)在室温条件下是一种带有恶臭味的透明液体, 在有机合成中发挥着重要作用^[1-3], 被广泛应用于农药、医药及多种工业品的

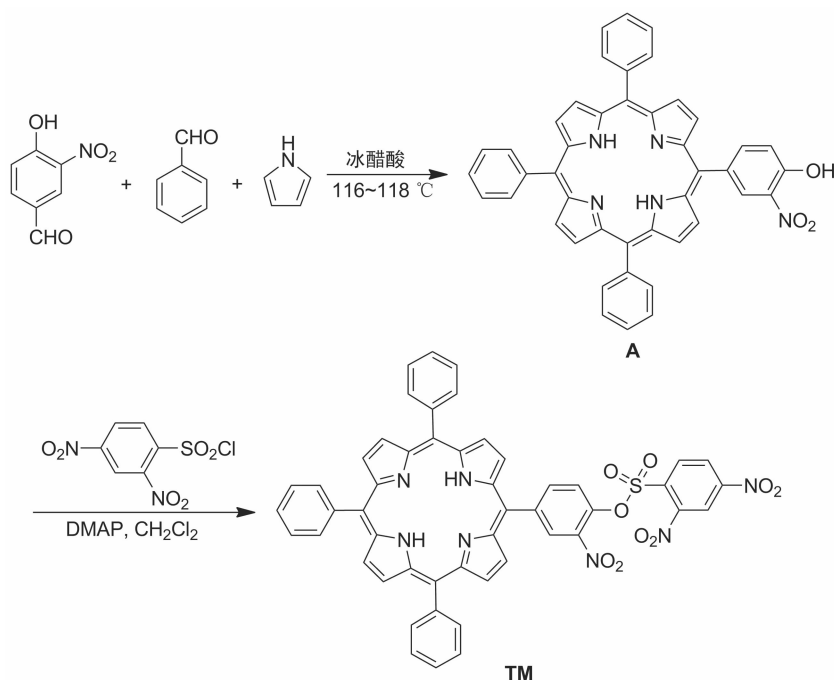
制备, 是重要的有机合成中间体^[4-5]。然而, 苯硫酚对呼吸道、眼睛、皮肤及粘膜有强烈刺激性, 吸入后容易发生中毒, 严重者甚至可导致死亡。长

收稿日期: 2018-02-11; 修订日期: 2018-07-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21202043); 湖南省教育厅青年项目(16B087)

作者简介: 付秀芳(1992), 女, 汉族, 河南永城人, 硕士研究生, 主要从事荧光探针的设计合成研究。E-mail: 2550990576@qq.com

通信联系人: 陈冠凡, 副教授, E-mail: chenguanfan@126.com; 曾荣今, 教授, E-mail: zengrj1963@126.com



Scheme 1

时间暴露在水或环境中的苯硫酚可引发严重的全身性损伤疾病,因此,开发一种可靠的检测苯硫酚水平的荧光探针至关重要。

目前,苯硫酚荧光探针的研究已引起广大学者的强烈兴趣^[6-9]。在一些已报道的苯硫酚荧光探针中,一部分显示荧光强度较弱或反应缓慢,还有一些则需要在高 pH 值环境中进行检测,只有少数荧光探针可用于监测实际环境和生物样品中的苯硫酚^[17-19]。卟啉具有较好的光稳定性和高的量子产率等特点,是一种性能优良的近红外荧光发色团,利用卟啉化合物设计合成的荧光探针日益增多^[10-13]。Feldman^[14]设计合成了一种新型卟啉衍生物作为荧光探针,并成功应用于氟离子检测,为卟啉在阴离子探针方面的研究提供了一种新方向。除此之外,水溶性卟啉以及卟啉为基础的巯基化合物探针也被广泛地研究;如常毅^[15]等合成的磺酸基阴离子型水溶性探针,杨玲^[16]等运用马来酰亚胺卟啉类探针对待异性巯基蛋白质的检测。谢朝阳^[17]等以咪唑修饰的卟啉类化合物探针,可有效识别氟、氯离子;成奋明^[12]等通过羟基卟啉设计合成一种检测 S^{2-} 的荧光探针,也取得较满意的效果。

因此,设计合成高选择性、高灵敏度的苯硫酚荧光探针仍是目前该领域的研究热点之一。本文尝试设计并合成以卟啉为母体的阴离子荧光探

针,期望其在近红外区进行检测时可有效减小复杂生物样品中背景荧光的干扰,提高检测的准确性和分辨率。以卟啉为母体,2,4-二硝基苯磺酰基(DNs)为识别基团合成了一种苯硫酚“开-关”型荧光探针(TM, Scheme 1),其结构经¹H NMR, IR 和 HR-MS (ESI) 表征,并研究了探针的荧光性能。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker AV-II 500 MHz 型核磁共振仪($CDCl_3$ 为溶剂, TMS 为内标); F400 型荧光光谱仪; Niclet 6700 型红外光谱仪(KBr 压片); Q-Tof Premier 型液相色谱-四极柱飞行时间质谱仪。

缓冲溶液为 PBS 缓冲溶液(pH 7.4); 水为二次蒸馏水; 其余所用试剂均为分析纯。

1.2 合成

(1) 5-(4-羟基-3-硝基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉(A)的合成

在 500 mL 三口圆底烧瓶中加入冰醋酸 300 mL, 搅拌下加热至 60 °C, 依次加入 4-羟基-3-硝基苯甲醛 8.614 g (0.05 mol) 和苯甲醛 15.28 mL (0.15 mol), 加热至回流, 分批缓慢滴加吡咯 14 mL (0.1 mol), 滴毕, 维持温度在 116 ~ 118 °C 继

续反应 1 h。搅拌下趁热加入无水乙醇 160 mL, 置于冰箱冷冻过夜, 抽滤, 固体用无水乙醇洗涤, 干燥得紫色化合物粗品, 经硅胶柱层析[洗脱剂: A = 石油醚/二氯甲烷 = 1.5/1, V/V, 收集第二个色谱带]纯化得紫红色固体 **A** 132 mg, 产率 3.9%; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.87 (d, $J = 27.9$ Hz, 7H), 8.21 (d, $J = 5.5$ Hz, 6H), 7.92 ~ 7.57 (m, 11H), 7.19 ~ 7.08 (m, 2H), -2.75 (s, 2H); IR ν : 3 463 (O—H), 3 319 (N—H), 3 054 (=C—H), 1 612 (C=C), 1 211 (C—O), 1 072 (C—N) cm^{-1} 。

(2) **TM** 的合成

将化合物 **A** 50 mg (0.0741 mmol) 和 4-二甲基吡啶 40 mg (0.327 mmol) 加入 50 mL 三口瓶中, 用 12 mL 精制二氯甲烷溶解, 通入氮气 10 min, 氮气保护下缓慢滴加 2,4-二硝基苯磺酰氯 11 mL (80 mg) 的精制二氯甲烷溶液, 滴毕, 搅拌下于室温反应 2 d (TLC 监测)。反应液依次用饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 旋蒸除溶, 粗品经硅胶柱层析(洗脱剂: A = 1/1, 收集第二个色谱带)纯化得紫红色固体 **TM** 53.6 mg, 产率 80%; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.90 (dd, $J = 39.7$ Hz, 7.2 Hz, 7H), 8.79 ~ 8.63 (m, 5H), 8.58 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H), 7.97 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.84 ~ 7.74 (m, 9H), -2.81 (s, 2H); IR ν : 3 446 (O—H), 3 321 (N—H), 3 053 (=C—H), 1 597 (S=O), 1 545 (C=C), 1 179 (S—O), 1 080 (C—N) cm^{-1} ; HR-MS (ESI) m/z : Calcd for $\text{C}_{50}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_9\text{S}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$ 906.190 4, found 906.135 6。

1.3 荧光探针测试

在比色皿中加入探针溶液 3 mL 和一定量的苯硫酚溶液, 反应一定时间, 在激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 425$ nm, 发射波长 $\lambda_{\text{em}} = 663$ nm 条件下, 测定体系的荧光强度。在室温条件下进行, 做空白实验和相应的测试。

2 结果与讨论

2.1 探针对于苯硫酚的荧光性能

首先, 检测了苯硫酚在 7 种常见溶剂(丙酮、四氢呋喃、乙腈、乙醇、DMF、DMSO、甲醇)中的荧光响应, 结果见图 1 所示。可以看出, 有机溶剂为丙

酮时, 该荧光探针对于苯硫酚的荧光响应最好。

考虑到含水量对于测试的影响, 进而检测了不同含水量(有机溶剂为丙酮)中该探针的荧光响应强度, 结果见图 2。当含水量为 40% 时, 该探针荧光响应最好。因此, 选择含有 10 mmol PBS 缓冲溶液、60% 丙酮、pH 为 7.4 的溶液作为测试所用溶液。

随着时间延长, 该探针的荧光强度在不断增强(图 3)。苯硫酚与探针反应 30 s 时, 荧光强度已经明显增强(图 4), 在 90 s 时荧光强度最强, 并且在 15 min 内荧光强度没有发生明显的变化。该结果表明, 反应时间为 90 s 时此探针已经基本反应结束, 说明该探针对于苯硫酚的检测具有高效性。

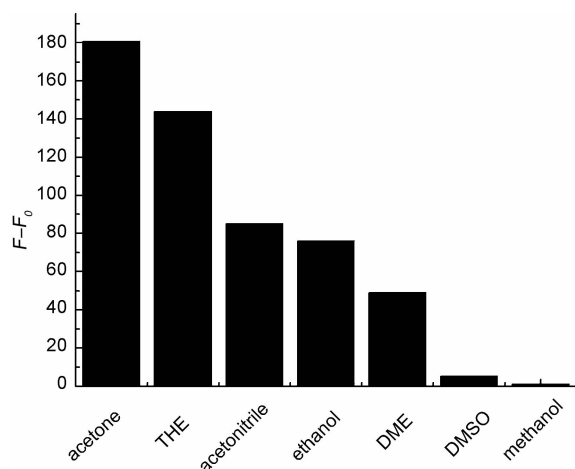


图 1 探针 **TM** 在 7 种溶剂中对苯硫酚的荧光响应
Figure 1 The fluorescence responses of **TM** in the presence of PhSH in seven polar solvents

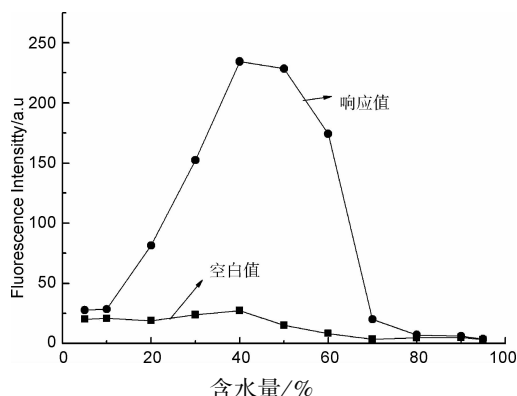


图 2 探针 **TM** 在丙酮的不同含水量溶液中对苯硫酚的荧光响应

Figure 2 The fluorescence responses of **TM** in the presence of PhSH in different water content of acetone

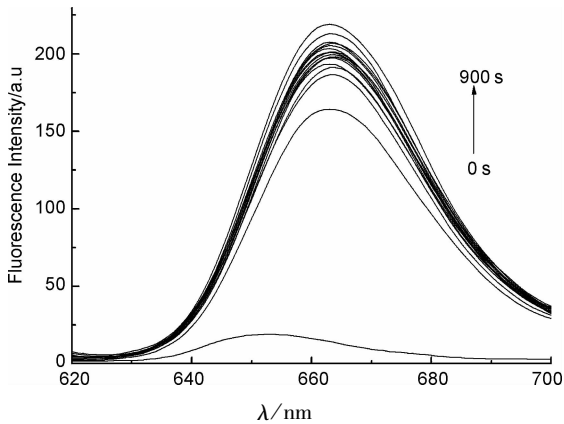


图3 随着时间延长探针 **TM** 对苯硫酚 (5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的荧光强度变化

Figure 3 Time-dependent fluorescence spectra of **TM** versus time

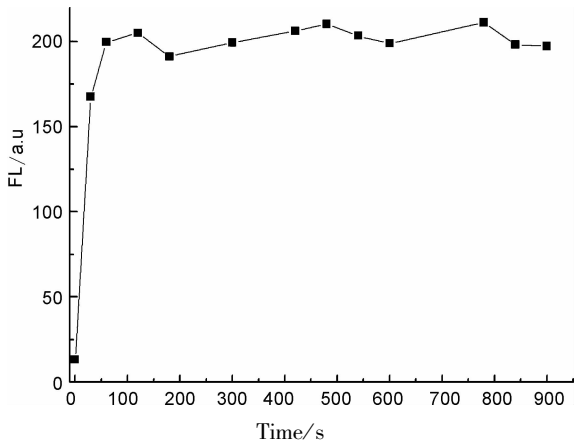


图4 随着时间延长探针 **TM** 对苯硫酚 (5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 荧光强度变化折线图

Figure 4 The plot of F versus time for **TM** upon addition of 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PhSH

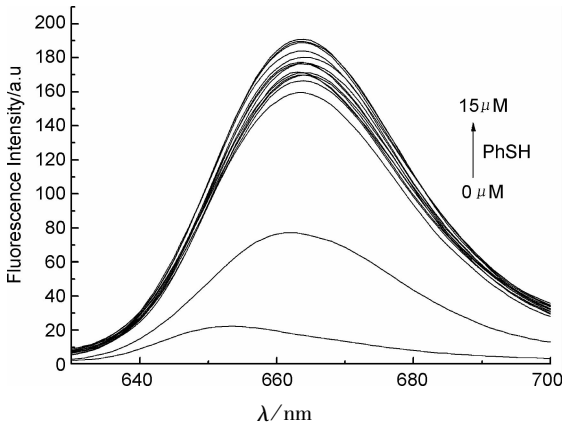


图5 随着苯硫酚 (0 ~ 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的不断加探针 **TM** 对其荧光响应变化

Figure 5 Concentration-dependent fluorescence spectra of **TM** versus concentration

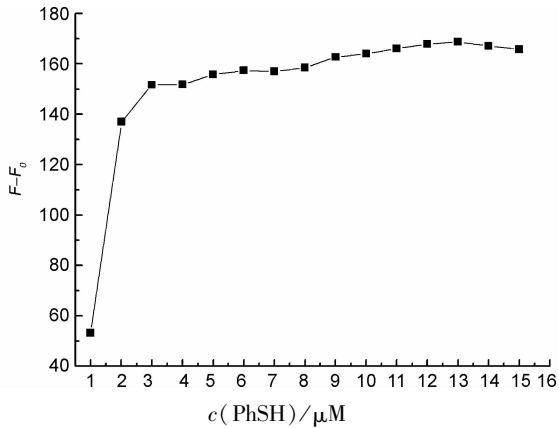


图6 随着苯硫酚 (0 ~ 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的不断加探针 **TM** 对其荧光响应变化折线图*

Figure 6 The plot of $F - F_0$ versus concentration for **TM** upon addition of PhSH (0 ~ 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

基于图4结果,将苯硫酚加入探针里,并在反应90 s时对其荧光响应进行检测,结果见图5所示。图中一系列 PhSH (0 ~ 15 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的荧光响应,空白荧光响应的发射峰值处于 655 nm;随着苯硫酚的加入,在 663 nm 处出现一个新的发射峰;并且随着苯硫酚浓度的增加,体系的荧光强度逐渐增强。另外可以看出,当苯硫酚的浓度增至 3 μM 时,体系荧光强度明显增强;浓度为 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,体系荧光在一定范围内稳定(图6)。基于 $S/N=3$ 计算所得该探针的检出限为 61 nm,研究结果表明,此探针对于苯硫酚的检测具有较高的灵敏度。

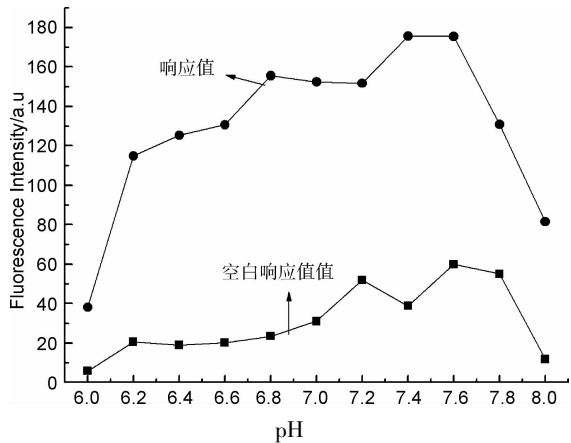


图7 在不同 pH PBS 缓冲溶液 (10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 丙酮含量 60%) 中,探针 **TM** 与苯硫酚 (5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 反应 90 s 后的荧光响应

Figure 7 The fluorescence intensity of the sensor **TM** after 90 s in PBS buffers with different pH (10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, containing 60% acetone)

2.2 探针的 pH 响应

在探针的 pH 响应图(图 7)中,可以清楚看出在空白以及有苯硫酚存在下的探针的荧光强度,苯硫酚的浓度均为 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, PBS 缓冲溶液浓度为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。pH 的测定范围为 6.2 ~ 8.0,因此,此探针可以在正常的生理条件可以被广泛的应用。

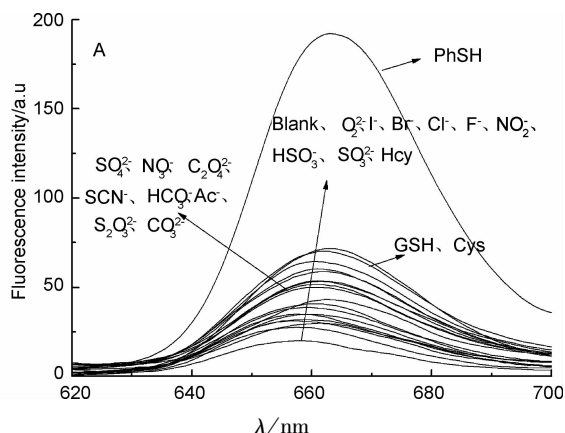


图 8 探针对苯硫酚($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和其他离子($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的荧光响应

Figure 8 Fluorescence emission spectra for the sensor in the presence of $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PhSH and $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ different species

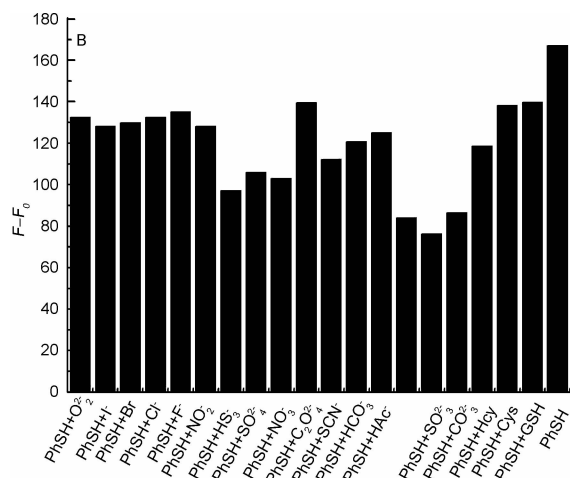


图 9 苯硫酚单独存在及与其他离子共存时在 662 nm 处的相对荧光差值

Figure 9 The relative fluorescence difference F/F_0 of the sensor at 662 nm in the presence of PhSH and other species

2.3 探针对于苯硫酚的选择性

为了研究探针的选择性,本实验比较了其他常见阴离子、巯基氨基酸和苯硫酚的荧光强度,结

果见图 8 所示。其中苯硫酚的浓度为 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,而其他离子,如 O_2^{2-} 、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 NO_2^- 、 HSO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 SCN^- 、 HCO_3^- 、 CH_3COO^- 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 SO_3^{2-} 、 CO_3^{2-} 、Hcy、Cys、GSH 浓度均为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,当只有苯硫酚离子在 655 nm 处有较高的荧光响应强度,表明探针的较好的选择性;而其他离子与苯硫酚共存时,并没有对其的检测造成显著地影响,如图 9 所示。研究结果表明,该探针对苯硫酚具有很好的选择性,可以在复杂的环境中实现苯硫酚的检测。

3 结论

以 5-(4-羟基-3-硝基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉为母体,2,4-二硝基苯磺酰酯为猝灭基团,设计合成了一种近红外荧光探针。该探针合成简单,并且可以快速(90 s)、高选择性地检测苯硫酚。当加入苯硫酚后,探针选择性地发生反应,使体系的荧光得以恢复,产生了强烈的红光。研究表明,该类探针对苯硫酚具有很好的选择性,能在复杂的环境中实现苯硫酚检测。

参考文献

- [1] SHIMADA K, MITAMURA K. Derivatization of thiol-containing compounds[J]. J Chromatogr B Biomed Appl, 1994, **659**(1-2): 227-241.
- [2] CHRISTOPHER L J, ESTROFF L A, KRIEBEL J K, *et al.* Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology[J]. Chem Reviews, 2005, **105**(4): 1103-1170.
- [3] EYCHMÜLLER A, ROGACH A L. Chemistry and photophysics of thiol-stabilized II-VI semiconductor nanocrystals[J]. Pure & Appl Chem, 2000, **72**(1-2): 179-188.
- [4] HEIL T P, LINDSAY R C. Toxicological properties of thio- and alkylphenols causing flavor tainting in fish from the upper Wisconsin River[J]. J Environ Sci & Heal B, 1989, **24**(4): 349-360.
- [5] ZHANG W, HUO F, LIU T, *et al.* A rapid and highly sensitive fluorescent imaging materials for thiophenols[J]. Dyes & Pigments, 2016, **133**: 248-254.
- [6] XIONG L, MA J, HUANG Y, *et al.* Highly sensitive squaraine-based water-soluble far-red/near-infrared chromofluorogenic thiophenol probe[J]. ACS Sens, 2017: 599-605.
- [7] SUN Q, YANG SH, WU L, *et al.* A Highly sensitive

- and selective fluorescent probe for thiophenol designed via a twist-blockage strategy[J]. *Anal Chem*, 2016, **88** (4): 2266 – 2272.
- [8] WANG Z, HAN D M, JIA W P, *et al.* Reaction-based fluorescent probe for selective discrimination of thiophenols over aliphatic thiols and its application in water samples [J]. *Anal Chem*, 2012, **84** (11): 4915 – 4920.
- [9] SUN Q, YANG S H, WU L, *et al.* Detection of intracellular selenol-containing molecules using a fluorescent probe with near-zero background signal[J]. *Anal Chem*, 2016, **88** (11): 6084 – 6091.
- [10] JIANG J, JIANG H, LIU W, *et al.* A colorimetric and ratiometric fluorescent probe for palladium[J]. *Org Lett*, 2011, **13** (18): 4922 – 4925.
- [11] KAND D, MANDAL P S, DATAR A, *et al.* Imino-coumarin based fluorophores: Indispensable scaffolds for rapid, selective and sensitive detection of thiophenol[J]. *Dyes & Pigments*, 2014, **106** (1): 25 – 31.
- [12] CHENG F, WU X, LIU M, *et al.* A porphyrin-based near-infrared fluorescent sensor for sulfur ion detection and its application in living cells [J]. *Sensor & Actuat B Chem*, 2016, **228**: 673 – 678.
- [13] FENG W, LI M, SUN Y, *et al.* Near-infrared fluorescent turn-on probe with a remarkable large stokes shift for imaging selenocysteine in living cells and animals [J]. *Anal Chem*, 2017, **89** (11): 6106 – 6112.
- [14] FELDMAN H, LEVY P D. Diprotonated sapphyrin: A fluoride selective halide anion receptor [J]. *Cheminform*, 1992, **23** (44): 5714 – 5722.
- [15] 常毅, 刘梦阳, 牛梦园. 阴、阳离子型水溶性卟啉的有效合成 [J]. *有机化学*, 2017, **37** (9): 2442 – 2448.
- [16] 杨玲, 廖超强, 曹杰, 等. 合成新型荧光增强型探针用于巯基蛋白质的检测 [J]. *现代化工*, 2016, (3): 178 – 181.
- [17] 谢朝阳, 欧阳勤, 朱义州, 等. 咪唑修饰的卟啉化合物的合成及其对卤素离子的选择性识别 [J]. *高等学校化学学报*, 2009, **30** (7): 1332 – 1336.

(上接第 677 页)

- [20] SNYDER C D, RAPOPORT H. Oxidative cleavage of hydroquinone ethers with argentic oxide [J]. *J Am Chem Soc*, 1972, **94**: 227 – 231.
- [21] WULFF W D, MCCALLUM J S, KUNNG F A. Two regiocomplementary approaches to angular furanocoumarins with chromium carbene complexes; Synthesis of sphondin, thiosphondin, heratomin, and angelicin [J]. *J Am Chem Soc*, 1998, **110**: 7419 – 7434.
- [22] KEINAN E, EREN D. Total synthesis of linear polyrenoids 2. Improved preparation of the aromatic nucleus of ubiquinone [J]. *J Org Chem*, 1987, **52**: 3872 – 3875.
- [23] HART D J, HUANG H C. Total synthesis of (+)-pleurotin and (+)-dihydropleurotin acid [J]. *J Am Chem Soc*, 1988, **110**: 1634 – 1635.
- [24] WISSNER A, FLOYD M B, JOHNSON B D, *et al.* 2-(Quinazolin-4-ylamino)-[1,4] benzoquinones as covalent-binding irreversible inhibitors of the kinase domain of vascular endothelial growth factor receptor-2 [J]. *J Med Chem*, 2005, **48**: 7560 – 7581.
- [25] BERNINI R, MINCIONE E, PROVENZANO G, *et al.* Catalytic oxidation of catechins to *p*-benzoquinones with hydrogen peroxide methyltrioxorhenium [J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, **46**: 2993 – 2996.
- [26] KREH R P, SPOTNITZ R M, LUNDQUIST J T. Mediated electrochemical synthesis of aromatic aldehydes, ketones, and quinones using ceric methanesulfonate [J]. *J Org Chem*, 1989, **54**: 1526 – 1531.
- [27] MARCHAND A P, ALIHODZIC S, SHUKLA R A. Simple procedure for preparing annulated *p*-benzoquinones. Improved synthesis of 1,4-dihydro-1,4-methanonaphthalene-5,8-dione [J]. *Synth Commun*, 1998, **28**: 541 – 546.
- [28] VALDERRAMA J A, GONZALEZ M F. Studies on quinones part 31, Synthesis and cyclization of substituted 2-acetyl amino-1,4-benzoquinones [J]. *Heterocycles*, 1997, **45**: 1703 – 1714.
- [29] TAING M, MOORE H W. *o*-Quinone methides from 4-allylcyclobutenones synthesis and chemistry [J]. *J Org Chem*, 1996, **61**: 329 – 340.
- [30] LOCKSHIN M P, FILOSA M P, ZURAW M J, *et al.* Formation of a novel sulfonated enedione [J]. *J Org Chem*, 1996, **61**: 2556 – 2558.