

文章编号: 1000-5862(2020)06-0580-04

“Turn Off”型蒽类荧光探针的合成及应用

方秋生, 陈 岭*, 宋智彬*

(江西师范大学化学化工学院, 教育部功能有机小分子重点实验室, 江西 南昌 330022)

摘要: 通过2步反应合成了一种含仲胺基团的蒽类荧光分子, 该小分子在不加其他任何试剂的情况下能够与二硫化碳(CS_2)发生反应, 通过硫原子的重原子效应导致分子荧光淬灭。利用核磁氢谱、碳谱、红外光谱(IR)、紫外-可见光谱以及荧光光谱证实了该荧光分子与 CS_2 的反应, 该类分子可成为检测 CS_2 的“Turn Off”型荧光探针。

关键词: 荧光探针; 荧光淬灭; 荧光滴定; CS_2

中图分类号: O 621.3; TP 212.2 **文献标志码:** A **DOI:** 10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2020.06.05

0 引言

二硫化碳(Carbon disulphide, CS_2)在工业生产中有着十分广泛的应用, 如用于生产橡胶硫化、粘胶纤维、四氯化碳、玻璃纸、熏蒸, 以及作为脂肪、树脂、蜡、漆、樟脑、硫、磷、碘的溶剂等, 但是 CS_2 具有较大的毒性, 长期接触低浓度 CS_2 可造成神经^[1]、内分泌、心血管等多系统损伤^[2]。近年来, CS_2 对生殖系统的毒性引起了国内外学者的广泛关注^[3]。 CS_2 所致神经毒性表现在作用于神经系统的不同层次/断面, 从微观的分子结构改变至典型的中枢神经系统疾病, 引起相应的分子生物学、生化学、病理学、神经生理学及行为学等变化^[4]。截至目前为止, 有关生物体内 CS_2 的荧光检测鲜见文献报道, 因此, 设计一种能选择性识别和高灵敏检测在环境中或在生物体内的 CS_2 的荧光探针具有十分重要的意义。在众多检测技术中, 荧光探针法具有选择性好、灵敏度高、对样品损伤小以及可实现实时原位检测等优点, 故应用荧光探针法检测环境以及细胞内 CS_2 浓度的变化是一个重要的课题。

目前, 常用的荧光团有氧杂蒽^[5]、香豆素^[6]等。近年来, 通过对这些荧光基团的修饰已经发展了许多检测有机小分子以及重金属离子等有害物质的方

法。孙俊永等^[7]总结了近年来分子荧光探针在一氧化氮分析中的应用, 高敏等^[8]设计了一种检查硫化氢的荧光探针, 刘柳等^[9]总结了近年来检测巯基化合物的荧光探针的研究进展, 郝佳等^[10]总结了有机小分子对金属离子 Zn^{2+} / Cd^{2+} 荧光探针的研究进展, 荧光探针在检测活性氮物种方面的运用也十分广泛^[11]。然而基于检测 CS_2 的荧光探针鲜有报道。

本文设计了一种以蒽为荧光团的荧光分子, 设想通过硫原子的重原子效应导致分子荧光淬灭, 利用紫外光谱和荧光光谱证实 CS_2 可使这种含有仲胺基团的蒽类荧光分子的荧光淬灭, 说明该类分子是一种潜在的检测 CS_2 的荧光探针。

1 实验部分

1.1 主要试剂和仪器

9-蒽醛、正丁胺、硼氢化钠均为分析纯, 三氯甲烷(除水), 四氢呋喃(除水), CS_2 。

AV400和Bruker AV100型核磁共振仪, 红外光谱仪 Nicolet6700, 紫外-可见分光光度计 U-3310。

1.2 化合物的合成

N-(9-蒽基甲基)丁-1-胺(1)的合成路线如图1所示。

收稿日期: 2020-05-10

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(21402069)资助项目。

通信作者: 陈 岭(1986-), 男, 湖北黄冈人, 讲师, 博士, 主要从事有机大环和超分子化学领域的分子识别、传感及分子机器方面的研究。E-mail: chenlingjxnu@163.com

宋智彬(1982-), 男, 江西横峰人, 副教授, 博士, 主要从事功能有机分子的设计合成与应用方面的研究。E-mail: zbsong@jxnu.edu.cn

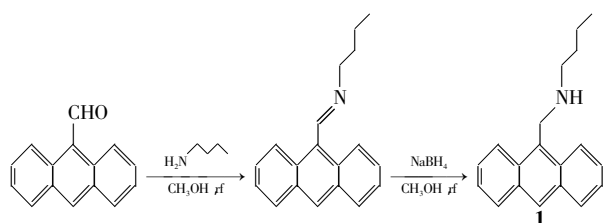


图1 化合物1的合成路线

参照文献[12]称取1.00 g(4.90 mmol) 9-蒽醛溶于50 mL 甲醇中,加入正丁胺0.5 mL(4.89 mmol),回流反应6 h后停止加热.待冷却至室温后缓慢加入0.38 g(10.00 mmol) 硼氢化钠,回流反应6 h.冷却至室温,缓慢加入冰水以消耗未反应完的硼氢化钠,用二氯甲烷萃取,有机相用无水硫酸钠干燥,真空旋干,用 v (乙酸乙酯): v (石油醚)=4:1 硅胶色谱柱分离,得黄色固体(化合物1)1.00 g,产率为82%.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.44(s, 1H), 8.40(d, $J=8$ Hz, 2H), 8.02(d, $J=8$ Hz, 2H), 7.62(t, $J=8$ Hz, 2H), 7.53(t, $J=8$ Hz, 2H), 4.75(s, 2H), 2.95(t, $J=8$ Hz, 2H), 1.80~1.83(m, 1H), 1.73~1.61(m, 2H), 1.55~1.41(m, 2H), 1.06(t, $J=8$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 132.0, 131.7, 130.4, 129.3, 127.2, 126.1, 125.4, 124.3, 77.7, 77.4, 50.4, 45.9, 32.4, 20.7, 14.2.

蒽-9-基甲醇(2)的合成路线如图2所示.

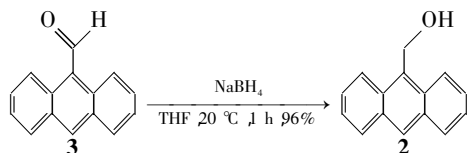


图2 化合物2的合成路线

参照文献[13]准确称取4.90 g(23.80 mmol) 9-蒽醛溶于50 mL 干燥四氢呋喃中,然后缓慢加入1.35 g(35.60 mmol) 硼氢化钠,于室温下反应3 h后,将反应液倒入200 mL 冰水中,有黄色沉淀生成.抽滤,滤饼用水洗涤,得化合物2黄色固体4.70 g,产率为96%.

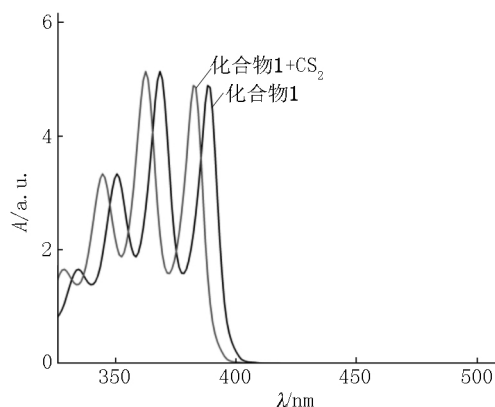
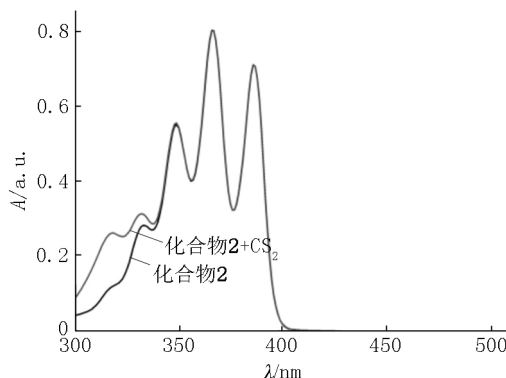
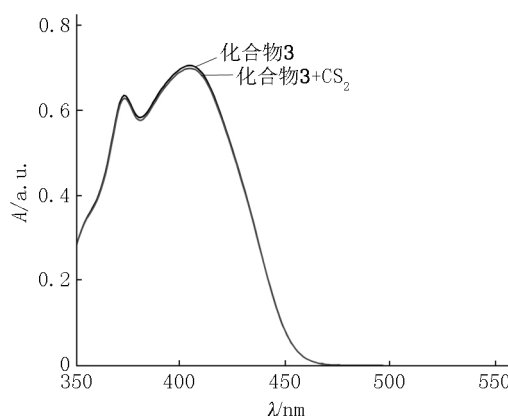
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.47(s, 1H), 8.42(d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.04(d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.62~7.54(m, 2H), 7.53~7.46(m, 2H), 5.67(s, 2H).

2 结果与讨论

2.1 紫外-可见光谱分析

以三氯甲烷为溶剂,配制摩尔浓度为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的化合物1溶液.取1 mL 该溶液用三氯甲烷稀释至3 mL,测其紫外吸收光谱,然后向该溶液中加入等摩尔物质的量的 CS_2 ,再测其紫外吸收光谱.

对化合物2和化合物3进行类似实验,结果如图3~图5所示.由图3~图5可知,化合物1、2、3的最大紫外吸收峰分别为368、367和373 nm.化合物1在加入 CS_2 后,最大吸收峰为362 nm,比加入 CS_2 之前向左移了6 nm,发生蓝移,而化合物2和化合物3的紫外吸收没有发生变化.这说明 CS_2 与化合物1发生了反应,而与化合物2和化合物3都没有发生反应,推测 CS_2 和化合物1反应生成了一种新的化合物4.

图3 化合物1和 CS_2 的紫外吸收光谱图4 化合物2和 CS_2 的紫外吸收光谱图5 化合物3和 CS_2 的紫外吸收光谱

2.2 荧光光谱分析

用氯仿作溶剂,将化合物1配成摩尔浓度为 $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,取20 μL CS_2 溶于1 mL 甲醇中.取12 μL 化合物1溶液,加入1 mL 氯仿,再加入配制的 CS_2 溶液2.5 μL ,最后稀释至3 mL,测

其荧光吸收光谱. 在测量荧光光谱时固定最大激发光波长为 388 nm, 最大发射光波长为 413 nm, 固定激发和发射狭缝均为 5 nm. 最后依次增加 2.5 μL CS_2 溶液, 做荧光滴定实验.

图 6 记录了当激发波长为 388 nm 时, 三氯甲烷中的化合物 1 在加入不同量的 CS_2 时发射波长取值范围为 375 ~ 550 nm 的荧光变化. 由图 6 可见: 化合物 1 在三氯甲烷中的荧光强度为 1 700; 随着 CS_2 浓度的不断增加, 其荧光逐渐减弱, 直至荧光强度降至 700. 可见这种荧光减弱十分明显, 有荧光淬灭的过程. 图 7 为加入 CS_2 前后的荧光对比图(左边为加入 CS_2 , 右边为未加入 CS_2).

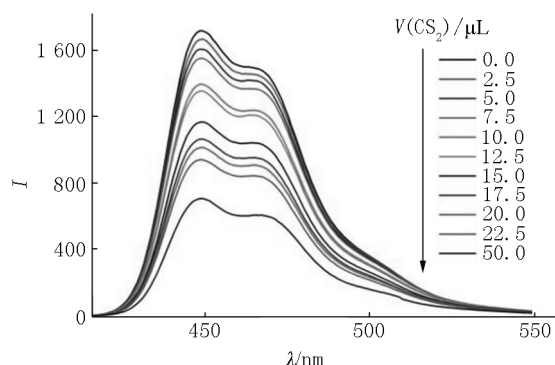


图 6 化合物 1 和 CS_2 的荧光滴定实验

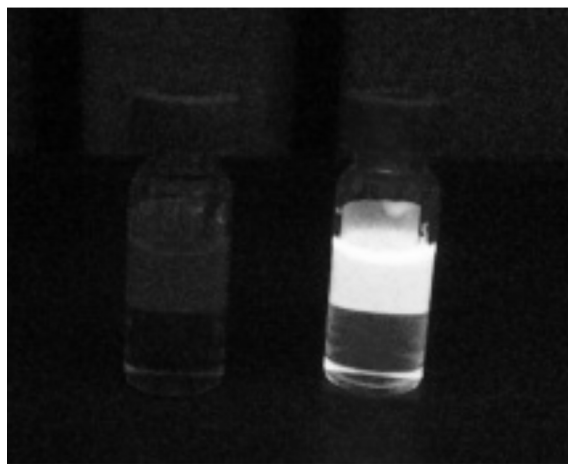


图 7 化合物 1 在加入 CS_2 前后的荧光对比

2.3 红外光谱分析

由紫外可见光光谱和荧光光谱可知化合物 1 和 CS_2 发生了化学反应, 生成了一种新的化合物 4. 为了进一步研究化合物 4 的结构, 测定了化合物 1 和化合物 4 的红外光谱, 结果如图 8 所示. 由图 8 可见, 化合物 4 的红外光谱图在 601 cm^{-1} 和 1 470 cm^{-1} 处有 2 个比较强的伸缩振动峰, 这 2 个峰分别归属为 C—S 单键和 C=S 双键的伸缩振动峰. 在 1 421 cm^{-1} 处有 1 个很强的伸缩振动峰, 这是 C—N 单键的伸缩振动峰, 与文献[14]相符. 而化合物 1 在 601 cm^{-1} 和 1 470 cm^{-1} 处并没有出现强的伸缩振动峰, 这进一步证明 CS_2 和化合物 1 发生了化学反应, 且生成了新的化合物 4, 这与之前的推测相吻合. 为了证

实, 下面做了核磁实验.

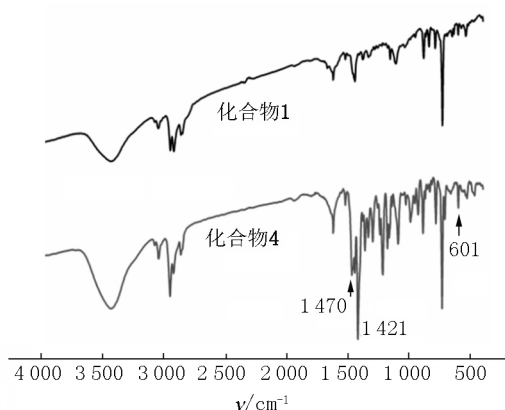


图 8 化合物 1 和化合物 4 的红外光谱对比

2.4 NMR 分析

利用 ^1H NMR 对加入 CS_2 后的化合物 1 和反应产物 4 进行核磁实验, 结果如图 9 所示. 化合物 1 中的 a 峰为 ArCH_2 峰, 相比化合物 4 的 ArCH_2 峰向低场移动了, 这是由于化合物 1 与 CS_2 反应后, 生成化合物 4 而导致的 a 处氢的移动; b 处为 NH 的信号峰, 相比化合物 4 的氢谱, 可看到相应的位置峰消失, 这是由于化合物 1 与 CS_2 反应后, 取代了 N 原子上的氢, 使得信号消失. 为了进一步证实 CS_2 与化合物 1 的反应, 进行了 ^{13}C NMR 的测试, 结果如图 10 所示.

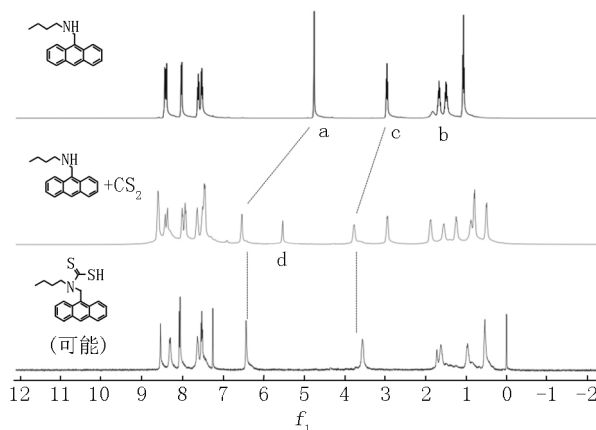


图 9 化合物 1 和化合物 4 的氢谱对比

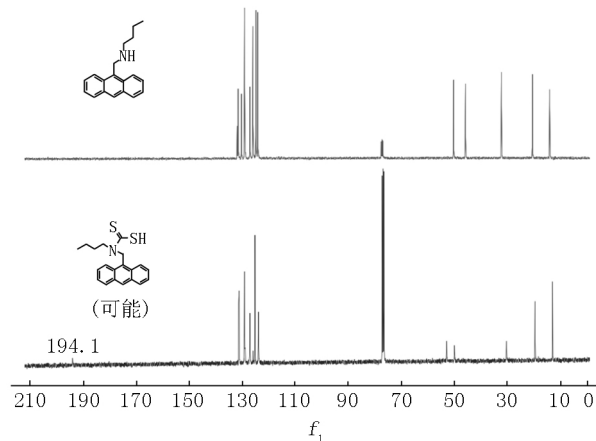


图 10 化合物 1 和化合物 4 的碳谱对比

由图 10 可知,化合物 4 在位移 194.1 处出现了 1 个类似羰基的信号峰,为 C=S 的信号峰. 上述核磁实验证明 CS₂ 和化合物 1 发生了化学反应. 参照文献 [15], 化合物 1 可能发生的反应如图 11 所示.

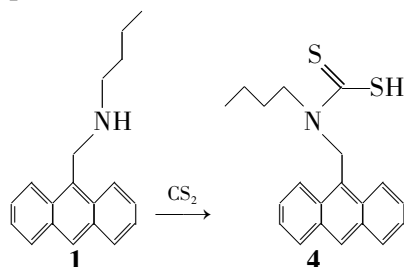


图 11 化合物 1 和 CS₂ 的化学反应图

3 结论

本文合成了含有仲胺基团的含蒽结构的荧光分子(化合物 1), 利用紫外光谱和荧光光谱证实了该荧光分子对 CS₂ 有明显的荧光淬灭性质. 通过红外光谱和核磁共振波谱证实 CS₂ 和化合物 1 发生了化学反应生成化合物 4, 并推测了化合物 4 的分子结构. 对于这种含有仲胺基团的荧光分子在复杂环境下检测 CS₂ 的工作还有待进一步完善.

4 参考文献

- [1] 张寿林. 二硫化碳神经毒性的临床研究 [J]. 中国工业医学杂志 2001, 14(6): 365-368.
- [2] 吴艳玲, 王志萍. 二硫化碳对接触人群生殖毒性研究进展 [J]. 中国公共卫生 2016, 32(8): 1133-1136.
- [3] 邓菁, 季佳佳, 赵艳芳, 等. 二硫化碳对男性生殖系统的毒性研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2007, 24(6): 636-639.
- [4] 梁友信, 傅慰祖. 二硫化碳神经毒性评估 [J]. 劳动医学 2001, 18(1): 35-37.
- [5] 黄阳阳, 王梦嘉, 匡梦尧, 等. 基于氧杂蒽结构可控官能化的荧光探针研究新进展 [J]. 有机化学, 2014, 34(1): 1-25.
- [6] 刘江, 张小琴, 韩隽, 等. 香豆素类荧光探针在检测方面的研究进展 [J]. 浙江化工 2010, 41(9): 27-31.
- [7] 孙俊永, 黄克靖, 刘彦明, 等. 分子荧光探针在一氧化氮分析中的应用进展 [J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版 2008, 21(1): 1-7, 30.
- [8] 高敏, 于法标, 陈令新. 检测硫化氢分子的荧光探针 [J]. 化学进展 2014, 26(6): 1065-1078.
- [9] 刘柳, 冯景川, 盖冬玮, 等. 用于检测巯基化合物的荧光探针的研究进展 [J]. 化学与生物工程 2016, 33(2): 1-7, 30.
- [10] 郑佳, 唐茜, 何颖芳, 等. 基于有机小分子的 Zn²⁺/Cd²⁺ 荧光探针研究新进展 [J]. 有机化学 2012, 32(10): 1803-1811.
- [11] 景晓彤, 于法标, 陈令新. 检测活性氮物种的荧光探针 [J]. 化学进展 2014, 26(5): 866-878.
- [12] Kumaresh Ghosh, Debojyoti Tarafdar, Asmita Samadder et al. Piperazine-based simple structure for selective sensing of Hg²⁺ and glutathione and construction of a logic circuit mimicking an INHIBIT gate [J]. New J Chem 2013, 37: 4206.
- [13] Ina Yoon, Sung E S, Stephanie A B, et al. Synthesis of 9-substituted triptycene building blocks for solid-phase diversification and nucleic acid junction targeting [J]. Org Lett 2016, 18: 1096-1099.
- [14] Ramos L A, Cavaleiro E T G, Chierice G O. Preparation, characterization and the thermal decomposition of ammonium salts of dithiocarbamic ACIDS [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2005, 79: 349-353.
- [15] Eugenel Iebera, Rosald C O. Aldrazinolysis of 1-(alkyldithioate)-piperidine [J]. J Org Chem, 1957, 22: 88-89.

The Synthesis of Anthracene Fluorophor for Fluorescence Turn-Off Detection and Its Application

FANG Qiusheng, CHEN Ling*, SONG Zhibin*

(Key Laboratory of Functional Small Organic Molecules, Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangxi Normal University, Nanchang Jiangxi 330022, China)

Abstract: In this work, the anthracene fluorophor with secondary amine group is synthesized through two-steps reaction. The interaction between anthracene fluorophor and CS₂ molecules is investigated via nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), infrared spectrum (IR), ultraviolet-visible light spectrum (UV-vis) and fluorescence spectra. And the formation of addition-compound from secondary amine group of anthracene fluorophor and CS₂ may be the cause of fluorescence turn-off. And this protocol can be a good choice for the determination of CS₂ base on fluorescence quenching.

Key words: fluorescence probe; fluorescence quenching; fluorescence titration; carbon disulphide

(责任编辑: 刘显亮)