

文章编号: 1000-7032(2018)09-1317-06

酮类甲醛荧光探针的合成及其光学性质

张 硕¹, 李龙龙¹, 赵 宁^{1*}, 李 冰¹,
彭 丹¹, 李金辉¹, 王 峰¹, 周宁宁², 刘世新³

(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省科学院新材料研究所, 山东省特种含硅新材料重点实验室, 山东 济南 250014;

2. 山东省计量科学研究院, 山东 济南 250014; 3. 山东省标准化研究院, 山东 济南 250014)

摘要: 设计合成了两种化合物 4-氨基 4-(4-甲氧基苯基)-3-丁烯-2-酮(1b)和 4-氨基-4-(1,3-二甲氧基苯基-5-基)-3-丁烯-2-酮(2b), 测试了其在不同甲醛含量下的紫外吸收光谱及单光子荧光光谱。当含有 100 $\mu\text{mol/L}$ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时, 化合物 1b 和 2b 的紫外吸收峰强度分别达到其最大值。在单光子荧光方面, 化合物 1b 的荧光发射峰位置在 384 nm, 与紫外吸收峰相比红移 50 nm。化合物 2b 的荧光发射峰呈现出双峰形状, 其发射峰位置分别在 384 nm 及 411 nm 左右。当加入 15 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时, 化合物 2b 的 411 nm 处的荧光发射峰明显增强, 两峰的重叠程度降低, 可作为检测甲醛的特征变化。以上数据表明, 化合物 1b 和 2b 不仅能够对微量甲醛产生响应, 也可作为一种理想平台为进一步拓宽化合物 1b 和 2b 在监测生物体系中甲醛荧光生物成像上的应用奠定理论基础。

关键词: 甲醛检测; 荧光探针; 紫外吸收光谱; 单光子荧光光谱

中图分类号: O625.67

文献标识码: A

DOI: 10.3788/fgxb20183909.1317

Synthesis and Optical Properties of Ketone-formaldehyde Fluorescence Probe

ZHANG Shuo¹, LI Long-long¹, ZHAO Ning^{1*}, LI Bing¹, PENG Dan¹,
LI Jin-hui¹, WANG Feng¹, ZHOU Ning-ning², LIU Shi-xin³

(1. Shandong Provincial Key Laboratory for Special Silicon-containing Materials, Advanced Materials Institute,
Qilu University of Technology(Shandong Academy of Sciences), Jinan 250014, China;

2. Shandong Institute of Metrology, Jinan 250014, China; 3. Shandong Institute of Standardization, Jinan 250014, China)

* Corresponding Author, E-mail: zhanon@sas.org

Abstract: Two new vinylmethylketone derivative, 4-amino-4-(4-methoxyphenyl) but-3-en-2-one (1b) and 4-amino-4-(1,3-benzodioxol-5-yl) but-3-en-2-one (2b) were synthesized and investigated as a possible fluorescent probe for formaldehyde detection. The linear absorption and fluorescent spectra of 1b and 2b in different formaldehyde concentration were investigated. The results indicate that the compound 1b and 2b have a intricate variation trend existing in UV-Vis absorption spectra and one-photon fluorescence spectra, respectively. In terms of single photon fluorescence, the fluorescence emission peak of compound 1b is located at 384 nm, which is 50 nm red shift compared with UV absorption peak. The fluorescence emission peak of compound 2b consists of two peaks located at 384 nm and 411 nm, respectively. When 15 $\mu\text{mol/L}$ of formaldehyde is added, the fluorescence emission peak of the compound 2b is obviously enhanced and the overlap degree of the two

收稿日期: 2017-11-30; 修订日期: 2018-03-25

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(51303097); 山东省自然科学基金(ZR2017BB033); 山东省科学院青年科学基金(2018QN0030)资助项目

Supported by National Natural Science Foundation for Youth of China(51303097); Natural Science Foundation of Shandong Province(ZR2017BB033); Youth Science Foundation of Shandong Academy of Sciences(2018QN0030)

peak is reduced, which can be used to detect the characteristics of formaldehyde. These results show that 4-amino-4-(4-methoxyphenyl)but-3-en-2-one (1b) and 4-amino-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)but-3-en-2-one (2b) are able to be as a promising candidate for formaldehyde detection.

Key words: formaldehyde detection; fluorescence probe; UV-Vis absorption spectra; one-photon fluorescence spectra

1 引 言

甲醛大量存在于家具、装修材料、室内空气、纺织用品、食品、化妆品中,它已经被世界卫生组织(WHO)和美国环境保护局(EPA)列为潜在危险致癌物与重要的环境污染物^[1-5]。在我国有毒化学品优先控制名单上甲醛高居第二位,作为一种细胞原生质毒物,甲醛一般是由呼吸道和胃肠道吸收,也可经皮肤吸收,直接作用于氨基、巯基和羧基,生成次甲基衍生物,从而破坏机体蛋白质和酶,使组织细胞发生不可逆转的凝固、坏死,对人体健康产生重要影响^[6-11]。在大多数生物有机体中,一些氨基酸和外源性物质,在脱甲基化酶或氧化酶的催化作用下,发生新陈代谢,也会产生内源性的甲醛。在大脑组织内,正常浓度的甲醛通过 DNA 脱甲基过程,在长期记忆的存储、保存和检索上有着至关重要的作用。然而,人体内的甲醛含量超过一定剂量时,会引起多种疾病,包括阿尔茨海默病、神经源性炎症、过敏性肺炎、哮喘症状、血管疾病和癌症等^[12-16]。在各种常用的甲醛检测分析方法中,荧光化学探针由于其具有操作简单方便、灵敏度高、选择性好、实时检测以及良好的生物相容性等优点,目前被认为是最高效的检测分析方法之一。所以,开发一种有效监测生物体系中甲醛的荧光探针显得尤为重要。Song 等^[17]在 2012 年设计了一种基于苯胺取代的 BODIPY 类荧光探针,实现了对甲醛的高灵敏度的定性和定量检测,并产生 turn-on 的荧光增强信号。Tang 等^[18]设计合成了一个亚细胞定位检测生物活细胞溶酶体中内源性甲醛的荧光增强型探

针,加入甲醛后荧光信号增强了约 350 倍。我们合成了两种化合物 4-氨基 4-(4-甲氧基苯基)-3-丁烯-2-酮(1b)和 4-氨基 4-(1,3-亚甲二氧基苯基-5-基)-3-丁烯-2-酮(2b)用作甲醛荧光探针,并且对其在不同甲醛含量下的紫外吸收光谱和单光子荧光光谱性能进行了系统研究,为进一步拓宽化合物 1b 和 2b 在监测生物体系中甲醛荧光生物成像上的应用奠定理论基础。

2 实 验

2.1 仪器和试剂

4-甲氧基苯乙酮、3,4-(亚甲基二氧)苯乙酮、醋酸铵、氢氧化钠、硫酸镁、醋酸、四氢呋喃、乙酸乙酯、浓盐酸、甲苯等,所用试剂和溶剂均为 AR,各试剂使用前均经无水精制。

测试液的制备:准确称取一定量的化合物 1b 置于 5 mL 的容量瓶中,然后以色谱纯的 DMF 溶液溶解定容,制得浓度为 1×10^{-3} mol/L 的化合物 1b 的母液;再用微量进样器准确吸取 5 μ L 母液置于 5 mL 容量瓶中,然后依次向容量瓶中加入 0, 5, 15, 20, 30, 50, 100 μ mol/L 的甲醛, PBS 缓冲溶液稀释至刻度得到化合物 1b 测试溶液。化合物 2b 的测试液也采用相同的方法配置而成。

紫外可见吸收光谱在 HITACHI U-2910 光谱仪上测得,单光子发射光谱在 HITACHI F-2700 荧光光谱仪获得,用 450 W 的氙灯为光源,荧光收集为侧面收集方式,半导体制冷的光电倍增管(PMT)为探测器。

2.2 化合物的合成

图 1 为化合物 1b 和 2b 的合成路线。

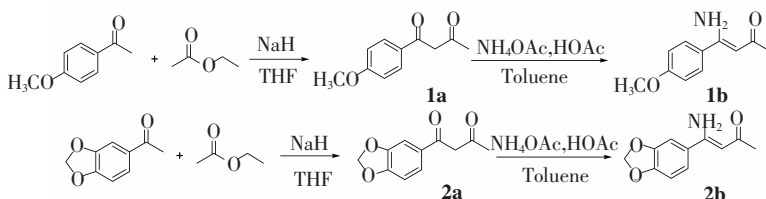


图 1 化合物 1b 和 2b 的合成路线

Fig. 1 Synthesis routes of compound 1b and 2b

2.2.1 1-(4-甲氧基苯基)-1,3-丁二酮 (1a) 的合成

将4-甲氧基苯乙酮 10 mmol 悬浮于 40 mL 四氢呋喃中,降温至 0 ℃,NaH 40 mmol 添加到该悬浮液中,搅拌反应 1 h,然后将 20 mmol 的乙酸乙酯逐滴加入到上述反应液中,反应温度逐渐升至室温,室温下继续反应 5 h。反应完成后将反应液倒入 200 mL 的冰水中,浓盐酸调节 pH 至 4~5,乙酸乙酯萃取,硫酸镁干燥,硅胶担载柱分离,得白色粉末状固体,产率 82%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.88~7.76(m, 2H), 6.95~6.93(m, 2H), 6.12(s, 1H), 3.87(s, 3H), 2.17(s, 3H)。

2.2.2 4-氨基 4-(4-甲氧基苯基)-3-丁烯-2-酮 (1b) 的合成

将 1-(4-甲氧基苯基)-1,3-丁二酮 10 mmol 溶解在无水甲苯中,醋酸铵 20 mmol 和醋酸 1.0 mL 分别加入到上述反应液中,氮气保护下回流反应 4 h。然后将反应液倒入水中萃取,硫酸镁干燥,硅胶担载柱分离,得淡黄色状固体,产率 82%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 10.15 (bs, 1 H), 7.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 6.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H), 5.70 (bs, 1 H), 5.13 (bs, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 2.06 (s, 3 H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 188.40, 162.88, 161.82, 132.93, 128.96, 113.43, 91.65, 55.31, 22.72。HRMS (ESI⁺): C₁₁H₁₄NO₂⁺ [M + H]⁺ found 192.102 0, requires 192.101 9。

2.2.3 1-(1,3-亚甲二氧基苯基-5-基)-1,3-丁二酮 (2a) 的合成

将 3,4-(亚甲基二氧)苯乙酮 10 mmol 悬浮于 40 mL 四氢呋喃中,降温至 0 ℃,NaH 40 mmol 添加到该悬浮液中,搅拌反应 1 h。然后将 20 mmol 的乙酸乙酯逐滴加入到上述反应液中,反应温度逐渐升至室温,室温下继续反应 5 h。反应完成后将反应液倒入 200 mL 的冰水中,浓盐酸调节 pH 至 4~5,乙酸乙酯萃取,硫酸镁干燥,硅胶担载柱分离,得白色固体,产率 74%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.49 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H), 7.36 (d, *J* = 2 Hz, 1 H), 6.07 (s, 1 H), 6.14 (s, 2 H), 2.17 (s, 3 H)。

2.2.4 4-氨基-4-(1,3-亚甲二氧基苯基-5-基)-3-丁烯-2-酮 (2b) 的合成

将 1-(1,3-亚甲二氧基苯基-5-基)-1,3-丁二

酮 10 mmol 溶解在无水甲苯中,醋酸铵 20 mmol 和醋酸 1.0 mL 分别加入到上述反应液中,氮气保护下回流反应 4 h,然后将反应液倒入水中萃取,硫酸镁干燥,硅胶担载柱分离,得淡黄色状固体,产率 80%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 10.20 (bs, 1 H), 7.46 (dd, *J*₁ = 1.6 Hz, *J*₂ = 8.4 Hz, 1 H), 7.39 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H), 6.82 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 6.00 (s, 1 H), 5.64 (bs, 1 H), 5.29 (bs, 1 H), 2.06 (s, 3 H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 188.10, 162.71, 149.87, 147.77, 134.86, 122.14, 107.72, 107.48, 101.41, 91.78, 22.84。HRMS (ESI⁺): C₁₁H₁₂NO₃⁺ [M + H]⁺ found 206.081 0, requires 206.081 2。

3 结果与讨论

3.1 紫外吸收光谱

图 2 为不同甲醛浓度下化合物 1b 的紫外吸收光谱。由图 2 可知浓度为 1 × 10⁻⁶ mol/L 的化合物 1b 在 PBS 缓冲溶液中紫外吸收峰位置在 334 nm 左右,而且随着甲醛的加入,化合物 1b 的紫外吸收峰位置变化不大。另一方面,化合物 1b

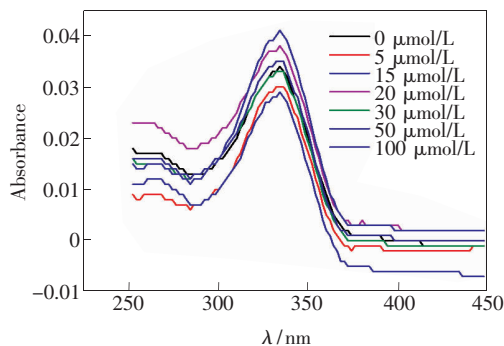


图 2 化合物 1b 的紫外吸收光谱

Fig. 2 UV-Vis absorption spectra of compound 1b

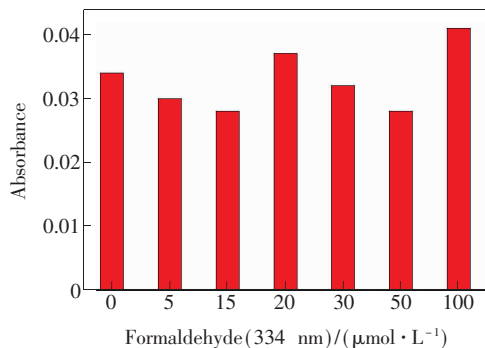


图 3 化合物 1b 在 334 nm 下的紫外吸峰强度

Fig. 3 UV-Vis absorption intensity of compound 1b in 334 nm

的紫外吸收峰强度随甲醛加入量的不同,呈现出复杂的双 V 字型变化趋势(图 3)。首先,当加入甲醛的量为 0, 5, 15 $\mu\text{mol/L}$ 时,其吸收峰强度依次降低,但当加入 20 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时吸收峰强度却转而增大。其次,随着甲醛含量的继续增加,吸收峰强度继续降低。当含有 100 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时,化合物 1b 吸收峰强度达到最大值。

图 4 为化合物 2b 的紫外吸收光谱。由图 4 可知,化合物 2b 的最大紫外吸收峰在 337 nm 处并且随着甲醛的加入最大吸收峰位置基本不变,与化合物 1b 类似。对化合物 2b 的吸收峰强度而言,随甲醛加入量的增加,化合物 2b 呈现出与化合物 1b 截然不同的变化趋势(图 5)。当加入 5 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时,其紫外吸收峰强度明显增强达到最大值,但随着甲醛含量的逐步增加,化合物 2b 的紫外吸收峰强度却呈现出重复降低再增加的曲折变化。

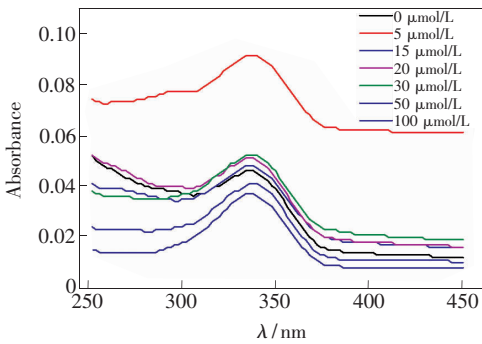


图 4 化合物 2b 的紫外吸收光谱

Fig. 4 UV-Vis absorption spectra of compound 2b

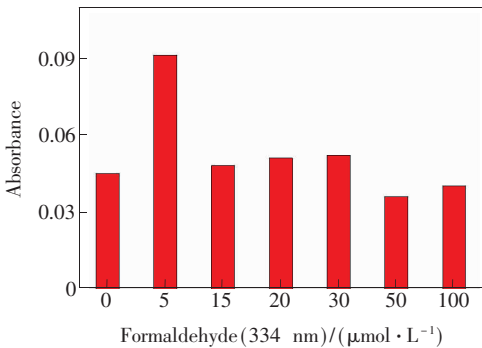


图 5 化合物 1b 在 337 nm 下的紫外吸峰强度

Fig. 5 UV-Vis absorption intensity of compound 1b in 337 nm

3.2 单光子荧光光谱

图 6 为化合物 1b 的单光子荧光光谱。由图 6 可知当加入甲醛后化合物 1b 的荧光强度减弱,其荧光发射峰位置在 384 nm,与紫外吸收峰相比

红移 50 nm。但从整体而言甲醛的加入对化合物 1b 单光子荧光发射峰的峰型和强度变化影响不大。图 7 为化合物 2b 的单光子荧光光谱。一方面,由图 7 可以看到化合物 2b 的荧光发射峰呈现出双峰形状,其发射峰位置分别在 384 nm 及 411 nm 左右,但当加入 5 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时位于 411 nm 左右的单光子荧光发射峰几乎消失。当加入 15 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时,化合物 2b 在 411 nm 处的荧光发射峰明显增强,并且与化合物 2b 相比,两峰的重叠程度明显降低,可作为检测甲醛的特征变化。随着甲醛含量的继续增加,位于 411 nm 左右的第二发射峰消失。在甲醛的加入量对发射峰强度的影响方面,随着甲醛的加入化合物 2b 的荧光发射峰整体呈现出降低的趋势,但当甲醛的加入量超过 15 $\mu\text{mol/L}$ 时甲醛的加入对发射峰强度降低的程度影响不大。

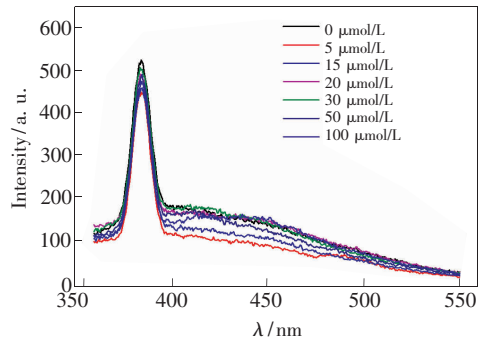


图 6 化合物 1b 的单光子荧光光谱

Fig. 6 One-photon fluorescent spectra of compound 1b

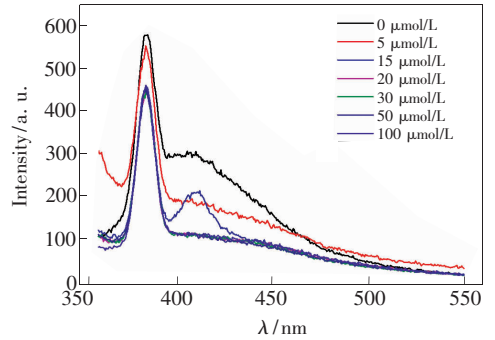


图 7 化合物 2b 的单光子荧光光谱

Fig. 7 One-photon fluorescent spectra of compound 2b

4 结 论

本文合成了两种新型的化合物 4-氨基 4-(4-甲氧基苯基)-3-丁烯-2-酮(1b) 和 4-氨基 4-(1,3-亚甲二氧基苯基-5-基)-3-丁烯-2-酮(2b),研究了这两种化合物不同甲醛含量下的紫外吸收光谱及

单光子荧光光谱。结果表明:(1)化合物 1b 和 2b 在 PBS 缓冲溶液中紫外吸收峰位置分别在 334 nm 和 337 nm 左右,当加入甲醛的量分别为 100 $\mu\text{mol/L}$ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 时,紫外吸收峰强度达到其最大值;(2)化合物 1b 的荧光发射峰位置在 384 nm,与紫外吸收峰相比红移 50 nm,化合物 2b 的荧光发射峰呈现出双峰形状,其发射峰位置分别

在 384 nm 及 411 nm 左右。加入 15 $\mu\text{mol/L}$ 的甲醛时,化合物 2b 的 411 nm 处的荧光发射峰明显增强,并且与化合物 2b 相比,两峰的重叠程度明显减小,可作为检测甲醛的特征变化。综上所述,化合物 1b 和 2b 不仅能够对微量甲醛产生响应也可用作一种较为理想的平台为更进一步构筑优秀的甲醛荧光探针奠定理论基础。

参 考 文 献:

- [1] 黄湘源,徐春秀. 催化动力学测定食品中痕量甲醛 [J]. 南昌大学学报, 2003, 27(1):78-81.
HUANG X Y, XU C X. The catalytic kinetic spectro photometric determination of trace for maldehyde in food [J]. *J. Nanchang Univ.*, 2003, 27(1):78-81. (in Chinese)
- [2] 牛凤兰,宋德锋,吕喆,等. 甲醛的毒性及预防研究进展 [J]. 现代预防医学, 2010, 37(12):2220-2222.
NIU F L, SONG D F, LV Z, et al. The progression of the research on for maldehyde toxicity [J]. *Modern Prevent. Med.*, 2010, 37(12):2220-2222. (in Chinese)
- [3] 袁帅,刘峥,赖丽燕,等. 3种对苯二甲醛类巯基席夫碱分子荧光光谱的量子化学研究 [J]. 发光学报, 2013, 34(5):585-589.
YUAN S, LIU Z, LAI L Y, et al. Quantum chemical study on the fluorescence spectroscopy of three kinds of 1,4-phthalaldehyde schiff base molecule [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2013, 34(5):585-589. (in Chinese)
- [4] 周炯,董山山,董双石,等. 基于 $\text{Er}^{3+}:\text{YAlO}_3/\text{TiO}_2$ 的可见光催化降解室内甲醛 [J]. 发光学报, 2015, 36(7):769-774.
ZHOU X, DONG S S, DONG S S, et al. Photocatalytic degradation of indoor formaldehyde by $\text{Er}^{3+}:\text{YAlO}_3/\text{TiO}_2$ photocatalyst under visible light irradiation [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2015, 36(7):769-774. (in Chinese)
- [5] 宋月,高春英,乔琳,等. 顺序注射化学发光分析法测定空气中的甲醛 [J]. 发光学报, 2009, 30(4):467-472.
SONG Y, GAO C Y, QIAO L, et al. A sequential injection method coupled with chemiluminescence detection for the determination of formaldehyde in air [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2009, 30(4):467-472. (in Chinese)
- [6] MAJUMDER P K, KUMAR V L. Inhibitory effects of formaldehyde on there-productive system of male rats [J]. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 1995, 39(1):80-82.
- [7] SALTHAMMER T, MENTESE S, MARUTZKY R. Formaldehyde in the indoor environment [J]. *Chem. Rev.*, 2010, 110(4):2536.
- [8] UNZETA M, SOL M, BOADA M, et al. Semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) and its possible contribution to vascular damage in Alzheimer's disease [J]. *J. Neur. Transm.*, 2007, 114:857-862.
- [9] HAUPTMANN M, STEWART P A, LUBIN J H, et al. Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde [J]. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2009, 101:1696-1708.
- [10] TASKINEN H K, KYRCNEN P, SALLMN M, et al. Reduced fertility among female wood workers exposed to formaldehyde [J]. *J. Ind. Med.*, 1999, 36:206-212.
- [11] OIBERG M T. Formaldehyde and cancer an epidemiologic perspective [J]. *Adv. Chem.*, 1985, 210:289-295.
- [12] CLARY J J. Formaldehyde risk analysis [J]. *Adv. Chem.*, 1985, 210:341-355.
- [13] GOODE J W. Toxicology of formaldehyde [J]. *Adv. Chem.*, 1985, 210:217-227.
- [14] THORNDIKE J, BECK W S. Production of formaldehyde from N-5-methyltetrahydrofolate by normal and leukemic leukocytes [J]. *Cancer Res.*, 1977, 37:1125-1132.
- [15] TSUKADA Y, FANG J, WARREN M E, et al. Histone demethylation by a family of jmjC domain-containing proteins [J]. *Nature*, 2006, 439:811-816.
- [16] KALSZ H. biological role of formaldehyde, and cycles related to methylation, demethylation, and formaldehyde production [J]. *Rev. Med. Chem.*, 2003, 3:175-192.

- [17] SONG H, RAJENDIRAN S, KIM N, *et al.*. A tailor desinged fluorescent ‘turn-on’ sensor of formaldehyde based on the BODIPY motif [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2012, 53(37):4913-4916.
- [18] TANG Y, KONG X, LIU Z R, *et al.*. A Lysosome-targeted turn-on fluorescent probe for endogenous formaldehyde in living cells [J]. *Anal. Chem.*, 2016, 88(19):9353-9363.



张硕(1986-),男,山东济南人,博士,助理研究员,2015年于山东大学获得博士学位,主要从事荧光材料、有机化学、药物化学及有机硅单体等方面的研究。

E-mail: e50687e@163.com



赵宁(1982-),男,山东莱芜人,博士,副研究员,2010年于山东大学获得博士学位,主要从事双光子荧光材料的制备及其应用等方面的研究。

E-mail: zhaon@sdas.org