

碳硼烷基苯并咪唑鎓环蕃的合成及核苷酸识别性质研究

林炳涵^a 卓继斌^b 林彩霞^a 高勇^{*,a,c} 袁耀锋^{*,a}^a 福州大学化学学院 福州 350108)^b 福建省计量科学研究院 福州 350003)^c 福建师范大学化学与材料科学学院 福州 350117)

摘要 以1,2-双(4-苄溴苯基)-邻碳硼烷为原料合成了两种新型的碳硼烷基苯并咪唑鎓类荧光探针 **4a** 和 **4b**, 通过 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹¹B NMR 和 ESI-MS 对其结构进行表征, 并通过荧光、紫外光谱研究了探针 **4a** 和 **4b** 对核苷酸的识别性能. 荧光滴定结果表明: 探针 **4a** 和 **4b** 可以对单磷酸尿苷(UMP)实现 on-off 型响应, 并具有良好的选择性和灵敏度, 其中探针 **4b** 对于 UMP 的检测限可以达到 3.41×10^{-8} mol/L. 通过 Job's 曲线和 ¹H NMR 滴定对探针 **4b** 的识别机理进行了初步的研究.

关键词 碳硼烷; 苯并咪唑; 识别; 荧光淬灭; 单磷酸尿苷

Synthesis and Nucleotide Recognition Properties of Carborane-Based Benzoimidazolium Cyclophane

Lin, Binghan^a Zhuo, Jibin^b Lin, Caixia^a Gao, Yong^{*,a,c} Yuan, Yaofeng^{*,a}^a College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350108)^b Fujian Metrology Institute, Fuzhou 350003)^c College of Chemistry and Materials Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117)

Abstract Two novel carborane-based benzoimidazolium fluorescent probes **4a** and **4b** were synthesized using 1,2-bis(4-benzylbromophenyl)-*o*-carborane as starting materials. The structures were characterized by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹¹B NMR and ESI-MS, and the recognition properties of probes **4a** and **4b** for nucleotides were studied by fluorescence and ultraviolet spectroscopy. The results of fluorescence titration showed that probes **4a** and **4b** could achieve on-off response to uridine monophosphate (UMP), and had good selectivity and sensitivity. The detection limit of probe **4b** for UMP could reach 3.41×10^{-8} mol/L. The recognition mechanism of the probe **4b** was studied by Job's curve and ¹H NMR titration.

Keywords carborane; benzoimidazole; recognition; fluorescence quenching; uridine monophosphate

单磷酸核苷酸作为 RNA 合成的底物, 在代谢和能量传导过程中起着关键作用. 单磷酸核苷酸包括单磷酸腺苷(AMP)、单磷酸鸟苷(GMP)、单磷酸胞苷(CMP)、单磷酸尿苷(UMP)四种. 其中, UMP 是一类重要的生物磷酸盐, 有研究表明 UMP 对小鼠在运动期间维持肝糖原水平恒定起着至关重要的作用^[1], Zhang 等^[2]报道了基于 1,8-萘酰亚胺骨架的荧光传感器用于识别单磷酸核苷酸, 在生理性环境下对 UMP, TMP, GMP 均表现出荧光增强, 无法实现特异性识别 UMP; 而 Piantanida 等^[3]合成的新型双菲-核碱基偶联物类荧光探针, 虽然可以在

缓冲液(pH=5, 二甲胺甲酸钠/盐酸)中特异性识别 UMP, 但酸性的条件显然不利于检测生物体系中 UMP. 因此, 设计合成在生理性环境下能特异性识别 UMP, 并且具有较低的检测下限的荧光探针, 仍然是一项具有挑战性的工作.

近年来, 研究人员已经合成了一系列以酰胺、咪唑和吡啶等为识别位点的荧光探针^[4], 这些荧光探针能够选择性地识别阴离子, 特别是在检测具有重要生物学意义的阴离子化合物方面^[5]. 这些阴离子化合物包括 5'-三磷酸腺苷(ATP)和 5'-三磷酸鸟苷(GTP)等, 其中咪唑啉

* Corresponding authors. E-mail: yaofeng_yuan@fzu.edu.cn; gaoyong@fjnu.edu.cn

Received March 1, 2022; revised April 3, 2022; published online April 22, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21772023, 22071025).

国家自然科学基金(Nos. 21772023, 22071025)资助项目.

类受体因其 C(2)上活泼氢能与客体形成氢键^[6], 取得了很好的效果。

本课题组前期报道了一类对磷酸盐具有特异性识别功能的咪唑鎓环蕃类化学传感器, 但无法实现对 UMP 的特异性识别^[7]。邻碳硼烷分子因其自身的三中心二电子键, 使得邻碳硼烷整体具有高度的缺电子性, 与苯并咪唑鎓盐供电子基团结合后, 可形成“推-拉”电子效应, 这有助于提高咪唑鎓环蕃的主客体识别性能。因此, 我们在前期工作的基础上引入了邻碳硼烷分子, 合成了碳硼烷基苯并咪唑鎓荧光探针, 使其具有更加优异的分子识别功能, 同时由于碳硼烷本身的低毒性^[8], 也降低了其在生物体内应用的危险性。本文中以邻碳硼烷二芳基团作为信号基团, 以苯并咪唑为识别基团, 实现了在生理性环境下选择性识别 UMP, 为发展高效灵敏的 UMP 探针提供了新颖的结构。

1 结果与讨论

1.1 合成目标化合物研究

目标探针 **4a** 和 **4b** 的合成路线如 Scheme 1 所示, 以 4,4'-双(溴甲基)二苯乙炔 **1** 为原料, 在甲苯中通过炔烃硼氢化反应合成了 1,2-双(4-苄溴苯基)-邻碳硼烷 **2**, 而后通过亲核取代反应与不同的双苯并咪唑取代物反应生成邻碳硼烷基苯并咪唑鎓探针 **4a** 和 **4b**。本工作合成的难点之一在于: **4a** 和 **4b** 的溴盐产物无法通过柱层析分离纯化, 由于粗产物中含有未成环副产物, 在后续离子交换中难以除去, 而副产物在二氯甲烷中的溶解度良

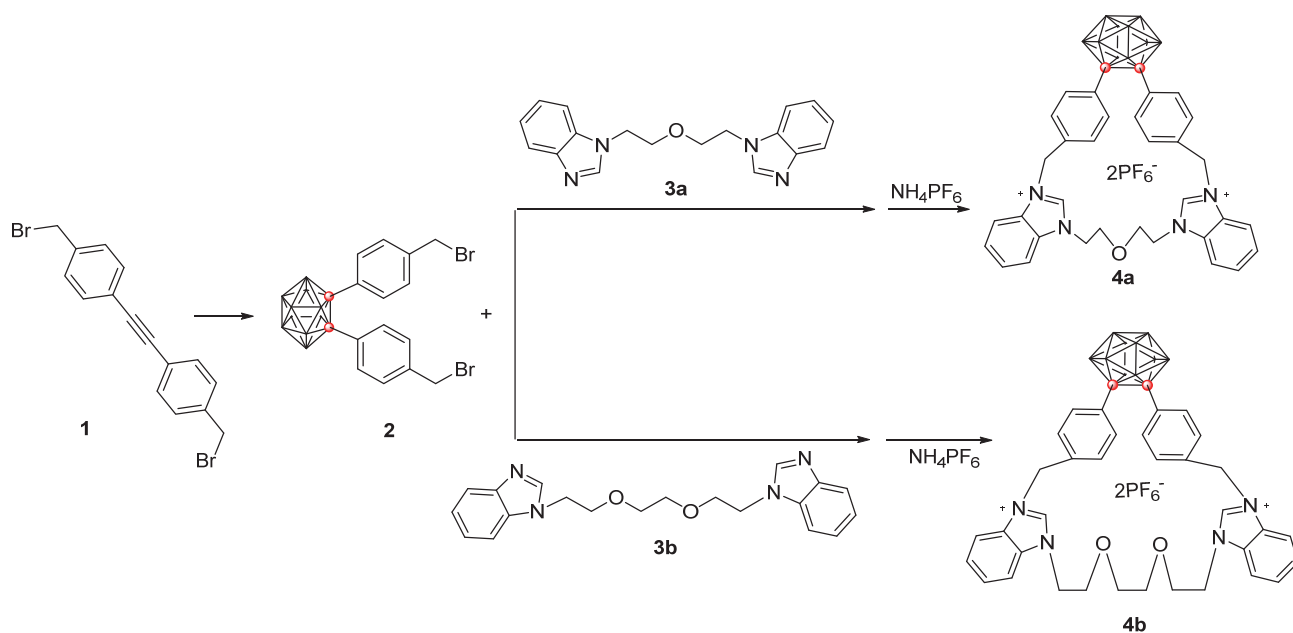
好, 成环产物在二氯甲烷较差, 故利用产物与副产物在溶剂中的溶解度不同来进行纯化, 用 PE(石油醚)/DCM(二氯甲烷) ($V:V=1:1$) 的混合溶剂反复洗涤除去没成环的副产物, 而后进行离子交换将溴离子交换为更加稳定的六氟磷酸根离子, 同时提高目标产物的稳定性。合成的另一难点在于: 目标反应为闭合成环反应, 副产物复杂, 产率较低, 因此在反应过程中应严格控制投料比为 1:1, 并且通过高度稀释法减少副产物的生成, 以提高产率。

1.2 目标化合物的结构表征

通过探针 **4a** 和 **4b** 的 ^1H NMR 对比发现: 苯并咪唑活泼氢化学位移分别为 δ 9.49 和 9.52, 与 **4a** 相比, 可以发现 **4b** 的活泼氢化学位移更偏向于低场, 这表明随着烷氧链的增长, 探针上的活泼氢更显酸性。通过 ^{13}C NMR 可得, 探针 **4a** 和 **4b** 苯并咪唑活泼氢位置上的碳化学位移分别为 δ 135 和 136, 其数值与文献报道的咪唑鎓盐类似^[9], 碳硼烷基团的上碳的化学位移始终保持在 δ 84 左右, 硼的化学位移在 δ -2.8, -9.6 左右, 其数值与文献报道的类似^[10], 与 **2** 相比, 碳与硼的化学位移并没有太大改变, 说明环蕃的生成对碳硼烷的碳与硼的化学位移没有太大的影响。

1.3 探针 **4a** 和 **4b** 对核苷酸的识别性能研究

为了研究探针 **4a** 和 **4b** 对不同核苷酸的识别性能, 进行了荧光光谱的选择性实验。用 4-羟乙基哌嗪乙磺酸 (HEPES) 水性缓冲液 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, $V:V=3:7$, 10



图式 1 探针 **4a** 和 **4b** 的合成路线
Scheme 1 Synthesis of probes **4a** and **4b**

mmol/L, pH=7.4)将探针 **4a** 和 **4b** 配制为 1.0×10^{-5} mol/L 的溶液, 将 AMP, GMP, CMP, UMP 配制为 1.0×10^{-2} mol/L 的溶液, 而后分别向探针 **4a** 和 **4b** 的溶液中加入 10 equiv. 不同的单磷酸核苷酸, 观察其荧光发射谱图的变化. 如图 1 所示, 当添加 10.0 equiv. 不同的单磷酸核苷酸后, 可以在 367 nm 处观察到探针 **4a** 和 **4b** 荧光发射强度的下降, 以探针 **4b** 为例, 在不同单磷酸核苷酸添加到探针 **4b** 溶液后, 荧光发射强度出现了不同程度的下降, 其中 UMP 对 **4b** 的荧光淬灭最明显 ($I/I_0=0.04$). 该选择性实验表明, 荧光探针 **4a** 和 **4b** 可以特异性识别 UMP, 其中, 荧光探针 **4b** 对 UMP 的识别效果更为显著.

为了研究探针 **4a** 和 **4b** 的荧光强度与 UMP 浓度之间的关系, 进行了荧光滴定实验. 将不同浓度的 UMP ($80 \sim 100 \mu\text{mol/L}$) 滴加到 **4a** 和 **4b** 的溶液 ($10 \mu\text{mol/L}$) 后观察其荧光光谱变化. 结果如图 2 所示, 以 **4b** 为例, 随着 UMP 浓度的增加, 探针 **4b** 在最大发射波长 367 nm 处荧光发射强度逐渐下降, 在加入 8 equiv. UMP 后荧光发射强度几乎不再变化, 淬灭完全, 在 254 nm 紫外灯照射下, 溶液的荧光由蓝紫色逐渐淬灭至没有荧光(图 2b

插图). 探针 **4b** 的荧光强度随着 UMP 浓度增大而逐渐减弱, 根据 Benesi-Hildebrand 方程^[7], 将 $[1/(F_0 - F)]$ 与 $[1/\text{UMP}]$ 进行线性拟合, 得到结合常数 $K=2.81 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 根据检测下限计算公式^[11]: $\text{DL}=3\sigma/k$, 得到检测限为 $3.41 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$. 而探针 **4a** 与 UMP 的结合常数 $K=2.87 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 检测限为 $7.62 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$. 显然, 探针 **4b** 对 UMP 识别的灵敏度好于 **4a**.

为了进一步研究探针 **4a** 和 **4b** 对 UMP 的识别, 进行了紫外-可见光谱滴定实验. 由于 UMP 在 252 nm 处存在紫外吸收峰, 因此本研究中单独测试了没有探针存在时加入相同浓度的 UMP 的紫外吸收谱图, 以此消除 UMP 自身浓度的增加引起的紫外吸收的增强. 在扣除 UMP 带来的紫外吸收影响后, 从得到的结果中可以发现 UMP 的加入对探针 **4a** 和 **4b** 的紫外吸收光谱的影响并不明显.

为了考察探针 **4a** 和 **4b** 对 UMP 识别的抗干扰能力, 进行了不同阴离子或单磷酸核苷酸存在时 **4a** 和 **4b** 识别 UMP 的抗干扰试验. 向含有探针 **4a** 和 **4b** 的溶液 ($10 \mu\text{mol/L}$) 中加入不同阴离子或单磷酸核苷酸 (100

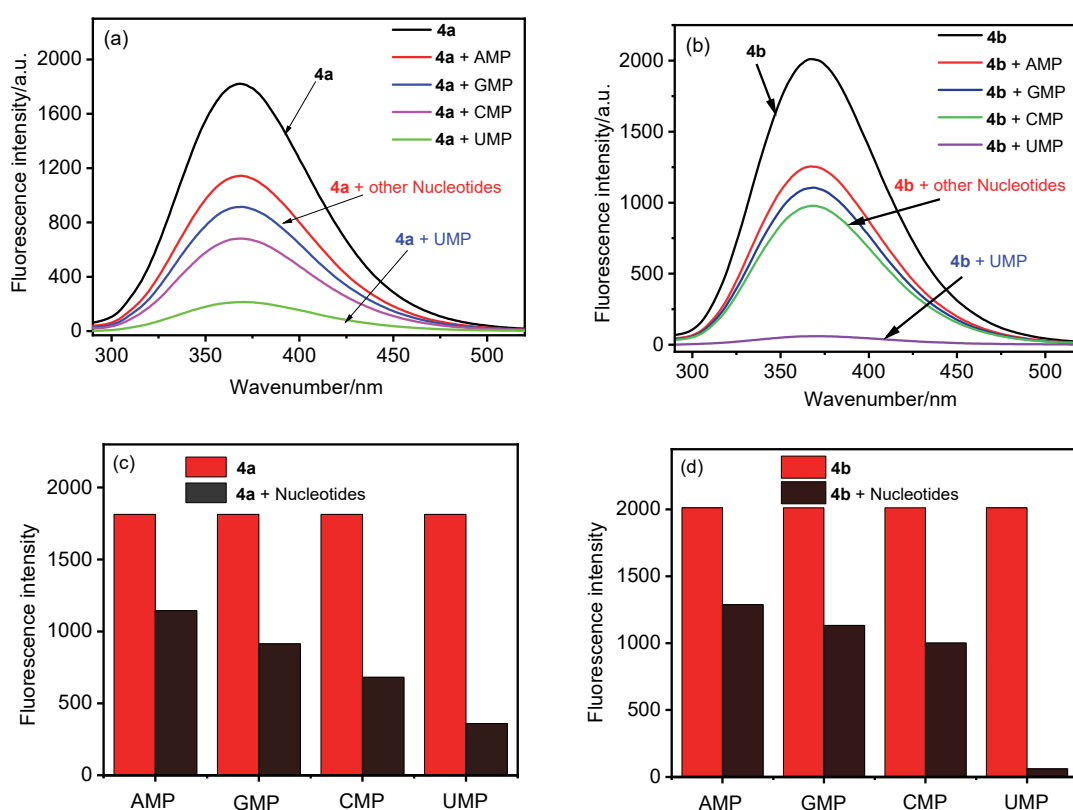


图 1 不同核苷酸($100 \mu\text{mol/L}$)存在下探针 **4a** 和 **4b** ($10 \mu\text{mol/L}$) 的荧光发射谱图(a, b); 在没有和存在单磷酸核苷酸($100 \mu\text{mol/L}$)的情况下 **4a** 和 **4b** ($10 \mu\text{mol/L}$) 在最大发射波长 367 nm 处的荧光强度对比图(c, d)

Figure 1 Fluorescence emission spectra of probes **4a** and **4b** ($10 \mu\text{mol/L}$) in the presence of different nucleotides ($100 \mu\text{mol/L}$) (a, b); Comparison of fluorescence intensity of **4a** and **4b** ($10 \mu\text{mol/L}$) at the maximum emission wavelength of 367 nm in the absence and presence of single nucleotides ($100 \mu\text{mol/L}$) (c, d)

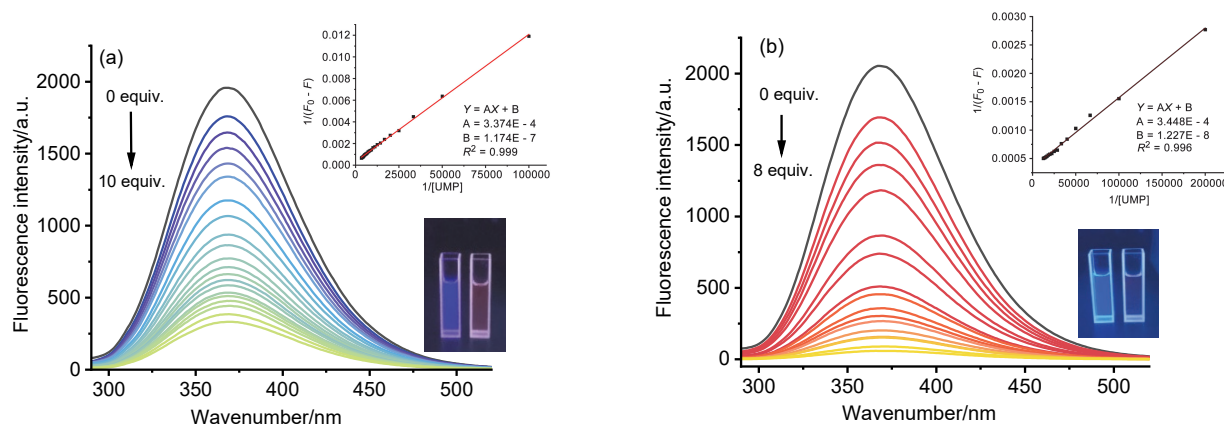


图2 (a)不同浓度的UMP (100 $\mu\text{mol/L}$)加入到探针 **4a** 溶液(10 $\mu\text{mol/L}$)中的荧光发射谱图(插图: **4a** 与UMP络合的B-H方程和254 nm下的荧光淬灭); (b)不同浓度的UMP (80 $\mu\text{mol/L}$)加入到探针 **4b** 溶液(10 $\mu\text{mol/L}$)中的荧光发射谱图(插图: **4b** 与UMP络合的B-H方程和254 nm下的荧光淬灭)

Figure 2 (a) Fluorescence emission spectra of different concentration of UMP (100 $\mu\text{mol/L}$) added to the solution of probe **4a** (10 $\mu\text{mol/L}$) (Inset: the B-H equation of **4a** complexed with UMP and fluorescence quenching exposed to 254 nm light); (b) Fluorescence emission spectra of different concentration of UMP (80 $\mu\text{mol/L}$) added to the solution of probe **4b** (10 $\mu\text{mol/L}$) (Inset: the B-H equation of **4b** complexed with UMP and fluorescence quenching exposed to 254 nm light)

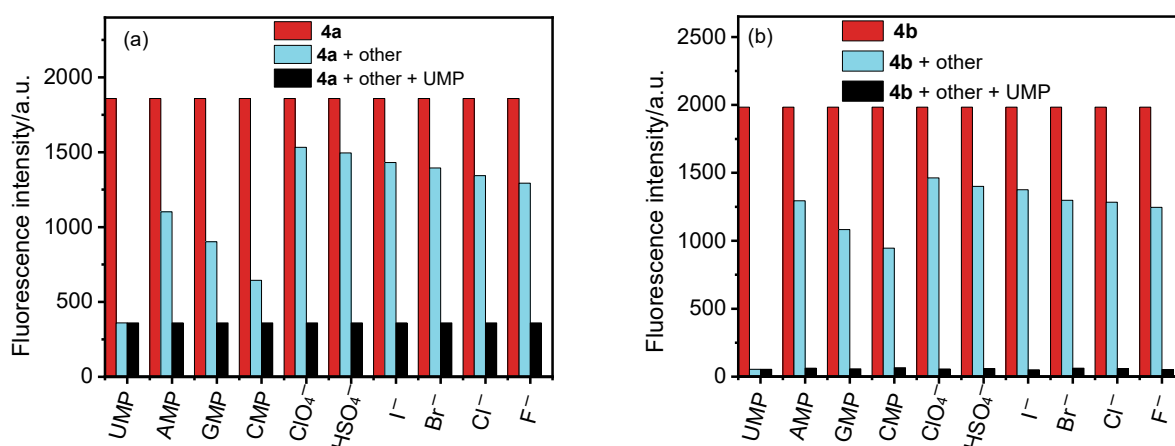


图3 (a)不同单磷酸核苷酸或阴离子存在下探针 **4a** 对UMP识别的抗干扰能力; (b)不同单磷酸核苷酸或阴离子存在下探针 **4b** 对UMP识别的抗干扰能力

Figure 3 (a) Anti-interference ability of probe **4a** to UMP in the presence of different monophosphate nucleotides or anions; (b) anti-interference ability of probe **4b** to UMP in the presence of different monophosphate nucleotides or anions

$\mu\text{mol/L}$), 而后再加入UMP, 测试其荧光光谱. 结果如图3所示, 以探针 **4b** 为例, 在探针溶液中加入其他阴离子或单磷酸核苷酸后, **4b** 在367 nm处的荧光淬灭并不明显变化, 随后再加入UMP, 可以观察到发生了显著的荧光淬灭, 这表明探针 **4b** 识别UMP的过程具有良好的抗干扰能力.

1.4 探针对核苷酸的识别机理研究

为了了解探针分子 **4a** 和 **4b** 与UMP之间的化学计量比, 利用荧光光谱得到探针 **4a** 和 **4b** 与UMP的Job's曲线, 其中, 横坐标为UMP的摩尔比例, 纵坐标为反应

前后的荧光强度差别. 结果如图4所示, 当UMP的物质的量比为0.5时, 荧光强度差别最大, 这表明了探针分子 **4a** 和 **4b** 与UMP的结合化学计量比为1:1, Job's曲线绘制可以参考文献[12].

为了进一步了解探针分子与UMP识别的氢键作用力, 在DMSO- d_6 溶剂中进行了 ^1H NMR滴定实验, 观察 ^1H 信号的偏移. 以探针 **4b** 为例, 如图5所示, 可以看到随着UMP的加入, **4b** 的苯并咪唑上C(2)上的 H_a 的质子信号有向低场移动的趋势, 当继续添加UMP至1 equiv. 时, 在 δ 9.52处氢的化学位移峰强度减弱, H_a 向低

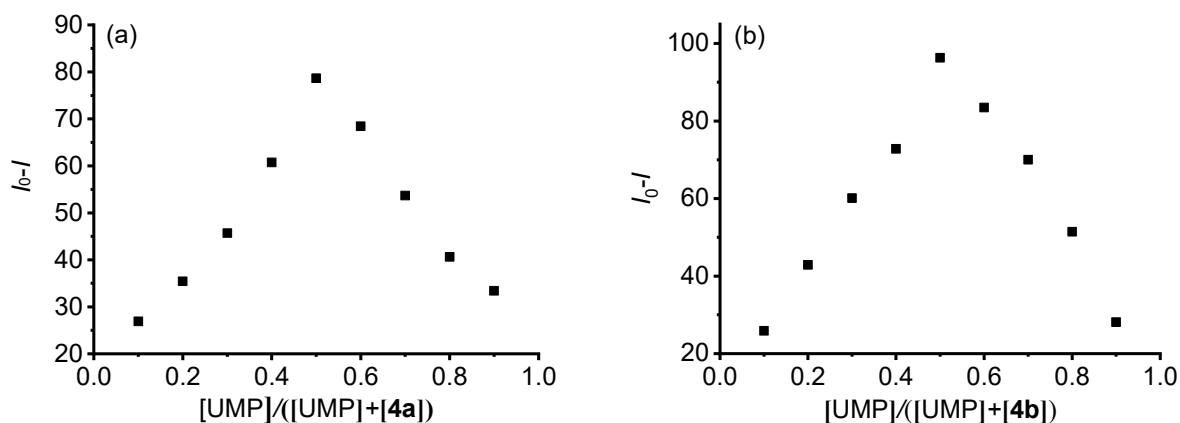


图4 探针 **4a** 和 **4b** 与 UMP 作用的 Job's 曲线
Figure 4 Job's plot between the probe **4a** or **4b** and UMP

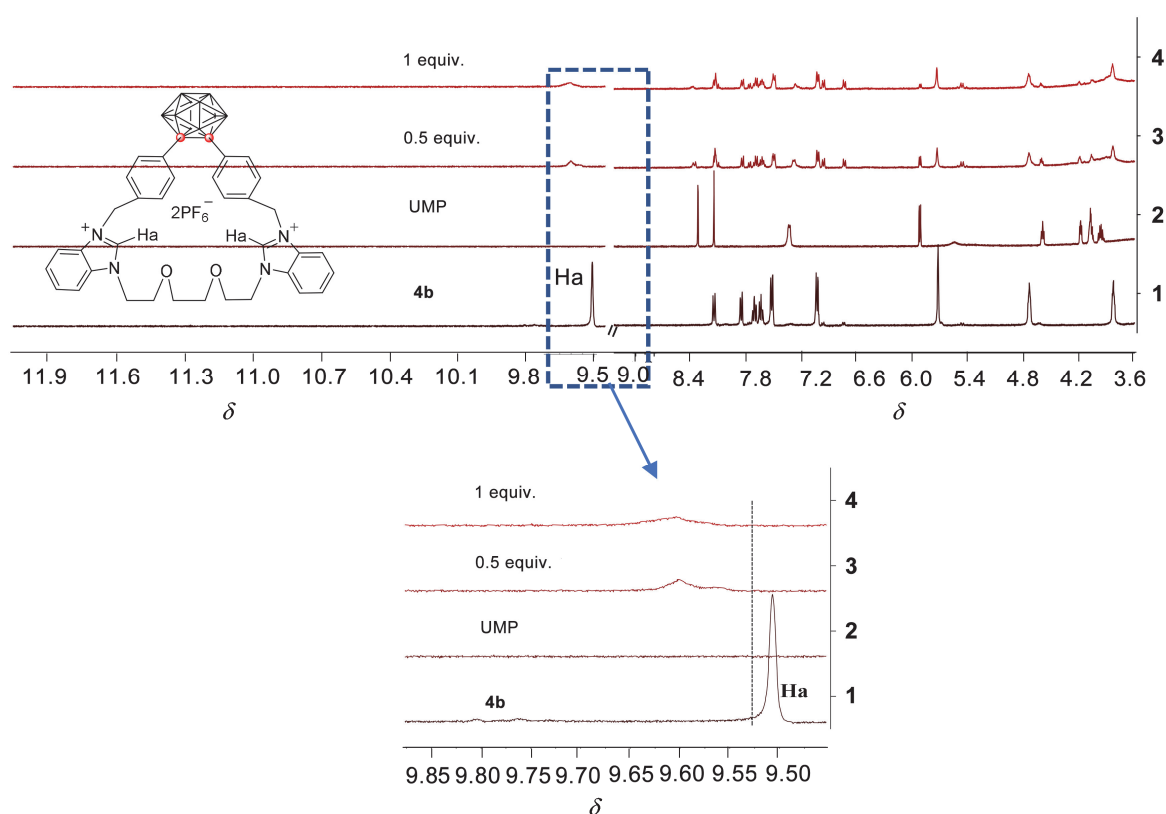
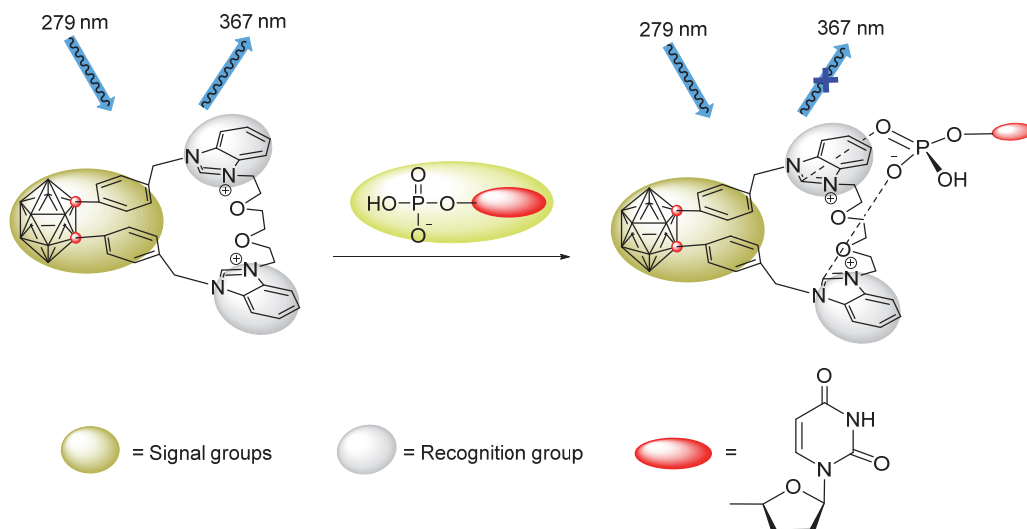


图5 不同浓度的 UMP 加入到 **4b** 溶液中的核磁变化谱图
Figure 5 ^1H NMR spectra of different concentration of UMP added to **4b** solution

场位移了 δ 0.1, 而其他质子的化学位移无明显变化, 这表明 **4b** 与 UMP 的识别主要是由于 UMP 中的磷酸基团与苯并咪唑上的(NCHN)上的氢原子通过 $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ 氢键相互作用力, 在氢键相互作用力下, 探针分子的电荷密度降低, 屏蔽效益减弱, 因此 H_a 化学位移向低场偏移. 根据核磁滴定数据以及 Job's 曲线推测: 探针 **4b** 对 UMP 的识别机理可能如 Scheme 2 所示.

1.5 探针 **4a** 和 **4b** 识别性能对比

将本研究合成的两种新型碳硼烷基苯并咪唑鎓探针 **4a** 和 **4b** 对 UMP 的结合常数以及检测限总结在表 1 中. 如表 1 所示, 探针 **4b** 展现出了比 **4a** 更低的检测限, 这可能是受体 **4b** 具有更大的内部空腔, 可以减小空间位阻对于识别 UMP 的影响, 并且探针 **4b** 苯并咪唑盐上(NCHN)的氢原子更具有酸性, 二者共同作用, 使得

Scheme 2 探针 **4b** 与 UMP 作用机理图Scheme 2 Proposed mechanism of probe **4b** interacted with UMP表 1 探针 **4a** 和 **4b** 对 UMP 的识别性能Table 1 Recognition performance of probes **4a** and **4b** for UMP

主体	客体	$K/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	检测限/ $(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
4a	UMP	2.87×10^3	7.62×10^{-7}
4b	UMP	2.81×10^4	3.41×10^{-8}

探针 **4b** 在相同环境下对 UMP 具有更好的识别作用。

2 结论

本研究通过在苯并咪唑鎓环蕃分子中引入邻碳硼烷骨架,设计合成了两种碳硼烷基苯并咪唑鎓探针 **4a** 和 **4b**。通过荧光光谱实验,这两种探针在 HEPES 水性缓冲液($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, $V:V=3:7$, 10 mmol/L, pH=7.4)下均对于 UMP 具有较好的识别作用,通过 Job's 曲线可知探针与 UMP 形成了 1:1 的配合物,核磁滴定实验表明受体分子苯并咪唑盐上的(NCHN)上的活泼氢原子作为核苷酸的识别位点,与磷酸基团产生氢键作用力。荧光滴定的结果表明,在同等条件下, **4b** 对于 UMP 具有更低检测限,可达到 3.41×10^{-8} mol/L。本文的工作为发展高效灵敏的 UMP 检测技术提供了理论依据。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker AV-400 M 核磁共振仪(400 MHz, TMS 为内标); JNM-ECZ500R/S1 核磁共振仪(500 MHz, TMS 为内标); 高分辨质谱 Exactive Plus LC-MS (ESI); PerkinElmer LAMBDA-750 型紫外分光光度计; FL Solution for F-4600 型荧光分光光度计; Spectrum 2000 傅立叶红外光谱仪; SGWX-4B 型显微熔点仪。

前体化合物 **1** 合成按照文献[13]方法制备, **3a** 和 **3b**

的合成按照文献[14]方法制备, **4a** 和 **4b** 的离子交换方法按照文献[15], 试剂无水处理按照文献方法[16], 荧光光谱实验试剂为光谱纯。

3.2 实验方法

3.2.1 1,2-双(4-苄溴苯基)-邻碳硼烷(**2**)的合成

在 100 mL 三口瓶中加入癸硼烷乙腈络合物(1.5 mmol, 306 mg)和 4,4'-双(溴甲基)二苯乙炔(0.4 mmol, 148 mg), 通过标准 Schlenk 操作进行无水无氧处理后, 加入 30 mL 干燥的甲苯溶解, 升温至 110 °C, N_2 保护下反应 24 h。反应结束后冷却至室温, 真空蒸发除去溶剂, 通过硅胶(100~200 目)柱层析(PE/DCM , $V:V=20:1$)纯化, 得到 289 mg 白色固体 **2**, 产率为 50%。m.p. 130~131 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.37 (d, $J=8.2$ Hz, 4H), 7.15 (d, $J=8.1$ Hz, 4H), 4.31 (s, 4H); ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3) δ : -2.26, -10.21; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 31.70, 84.58, 128.93, 130.55, 131.01, 140.01. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{B}_{10}\text{Br}_2\text{Na}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$ 505.0969, found 505.0973.

3.2.2 探针 **4a** 的合成与表征

在 250 mL 三口瓶中加入 150 mL CH_3CN , N_2 下加热至 70 °C, 同时缓慢滴加溶有 2,2'-双(1H-苯并咪唑基)醚 **3a** (0.20 mmol, 61 mg)和 1,2-双(4-苄溴苯基)-邻碳硼烷 **2** (0.20 mmol, 96 mg)的 60 mL 乙腈混合溶液中, 搅拌回流 6 d, 减压除去溶剂后得到固体粗产物, 用 PE/DCM ($V:V=1:1$)的混合溶剂洗涤粗产物(20 mL $\times$ 5)后, 通过抽滤将含有少量原料和未成环的副产物的溶液与固体粗产物分离, 而后用热甲醇将粗产物溶解, 滴加到饱和六氟磷酸铵的甲醇溶液中, 析出固体沉淀物, 将析出的固体沉淀物过滤, 洗涤, 干燥后得到白色固体的探针 **4a**

(68 mg), 产率 55%. m.p. 175~176 °C; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.49 (s, 2H), 8.01 (d, $J=8.45$ Hz, 2H), 7.98 (d, $J=8.45$ Hz, 4H), 7.71 (t, $J=8.45$ Hz, 2H), 7.59 (t, $J=8.45$ Hz, 2H), 7.46 (d, $J=8.60$ Hz, 4H), 7.25 (d, $J=8.60$ Hz, 4H), 5.66 (s, 4H), 4.79 (t, $J=4.40$ Hz, 4H), 4.00 (t, $J=4.40$ Hz, 4H); ^{11}B NMR (160 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : -2.47, -9.99; ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 144.2, 136.3, 133.3, 132.4, 130.72, 129.9, 128.6, 124.1, 122.2, 118.3, 69.2, 53.4, 50.5; IR (KBr) ν : 3667, 3157, 3092, 2573, 1561, 827, 741, 549 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{44}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}^{2+}$ [M/2] 314.2100, found 314.2101.

3.2.3 探针 4b 的合成与表征

在 250 mL 三口瓶中加入 150 mL CH_3CN , N_2 下加热至 70 °C, 同时缓慢滴加溶有 1,2-双(2-(1H-苯并咪唑-1-基)乙氧基)乙烷(3b) (0.20 mmol, 70 mg) 和 1,2-双(4-苄溴苯基)-邻-碳硼烷(2) (0.20 mmol, 96 mg) 的 60 mL 乙腈混合溶液中, 搅拌回流 6 d, 减压除去溶剂后得到固体粗产物, 用 PE/DCM ($V:V=1:1$) 的混合溶剂洗涤粗产物 (20 mL $\times$ 5) 后, 通过抽滤将含有少量原料和未成环的副产物的溶液与固体粗产物分离, 而后用热甲醇将粗产物溶解后, 滴加到饱和六氟磷酸铵的甲醇溶液中, 析出固体沉淀物, 将析出的固体沉淀物过滤, 洗涤, 干燥后得到白色固体的探针 4b (81 mg), 产率 60%. m.p. 172~173 °C; ^1H NMR (500 MHz, Acetonitrile- d_3) δ : 9.52 (s, 2H), 7.90 (d, $J=8.45$ Hz, 2H), 7.35 (t, $J=7.35$ Hz, 2H), 7.61~7.58 (m, 4H), 7.39 (t, $J=8.75$ Hz, 4H), 6.92 (d, $J=8.75$ Hz, 4H), 4.68 (t, $J=4.40$ Hz, 4H), 3.94 (t, $J=4.40$ Hz, 4H), 3.60 (s, 4H); ^{11}B NMR (160 MHz, Acetonitrile- d_3) δ : -3.82, -11.55; ^{13}C NMR (125 MHz, Acetonitrile- d_3) δ : 137.9, 132.9, 132.8, 132.6, 132.2, 128.6, 128.5, 128.1, 114.9, 114.6, 85.9, 71.1, 68.5, 50.5, 48.5; IR (KBr) ν : 3161, 2600, 1557, 833, 747, 552 cm^{-1} ; HRMS calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{B}_{10}\text{N}_4\text{O}_2^{2+}$ [M/2] 336.2228, found 336.2235.

3.3 荧光光谱滴定实验

精确称量一定量的主体探针, 配制好 HEPES 水性缓冲液($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, $V:V=3:7$, 10 mmol/L, pH=7.4), 用 HEPES 水性缓冲液配成浓度为 1.0×10^{-5} mol/L. 所有的客体分子也由 HEPES 水性缓冲液配成浓度为 1.0×10^{-2} mol/L, 荧光测定中, 激发波长为 279 nm, 激发狭缝 2.5 nm, 发射狭缝 2.5 nm.

室温条件下, 用移液枪移取 5 mL 一定浓度的主体溶液至离心管中, 然后将一定量的客体分子溶液加入到其中. 由于客体分子溶液的浓度远远大于受体溶液的浓度, 溶液的体积变化可以忽略不计. 振荡测试溶液, 然后以选定的激发波长扫描发射谱, 观察受体分子与各客

体分子相互作用前后的荧光光谱变化.

3.4 ^1H NMR 滴定实验

用 Bruker AV-400 M 核磁共振仪, 用 $\text{DMSO}-d_6$ 溶液将受体分子配制为一定浓度后, 向其中逐次加入不同浓度的核苷酸, 观察其受体分子与核苷酸结合后活泼氢化学位移的变化.

辅助材料(Supporting Information) 实验中前体、探针 4a 和 4b 的结构表征, 以及部分光谱图等数据. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- Gella, A.; Ponce, J.; Cusso, R. and Durany, N. *J. Physiol. Biochem.* **2008**, 64, 9.
- Zhang, L. M.; Guo, L. E.; Li, X. M.; Shi, Y. G.; Wu, G. F.; Xie, X. G.; Zhou, Y.; Zhao, Q. H.; Zhang, J. F. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 6131.
- Tumir, L. M.; Grabar, M.; Tomic, S.; Piantanida, I. *Tetrahedron* **2010**, 66, 2501.
- (a) Olivari, M.; Montis, R.; Karagiannidis, L. E.; Horton, P. N.; Mapp, L. K.; Coles, S. J.; Light, M. E.; Gale, P. A.; Caltagirone, C. *Dalton Trans.* **2015**, 44, 2138.
(b) Qiao, B.; Sengupta, A.; Liu, Y.; McDonald, K. P.; Pink, M.; Anderson, J. R.; Raghavachari, K.; Flood, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 9746.
(c) Toure, M.; Charles, L.; Chendo, C.; Viel, S.; Chuzel, O.; Parrain, J. L. *Chem.-Eur. J.* **2016**, 22, 8937.
- (a) Lin, J. H.; Tseng, W. B.; Lin, K. C.; Lee, C. Y.; Chandirasekar, S.; Tseng, W. L.; Hsieh, M. M. *ACS Sensors* **2016**, 1, 1132.
(b) Lu, S. H.; Phang, R. P.; Fang, J. M. *Org. Lett.* **2016**, 18, 1724.
- Li, X. Y.; Zhao, Z. X.; Hu, L. H.; Wei, D. C.; Liu, Q. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2021**, 41, 3608 (in Chinese).
(李芯颖, 赵志翔, 胡林海, 魏登澈, 柳清湘, 有机化学, **2021**, 41, 3608)
- Zhou, J.; Yuan, Y. F.; Zhuo, J. B.; Lin, C. X. *Tetrahedron Lett.* **2018**, 59, 1059.
- Fuentes, I.; Garcia-Mendiola, T.; Sato, S.; Pita, M.; Nakamura, H.; Lorenzo, E.; Teixidor, F.; Marques, F.; Vinas, C. *Chem.-Eur. J.* **2018**, 24, 17239.
- Ahmed, N.; Shirinfar, B.; Youn, I. S.; Bist, A.; Suresh, V.; Kim, K. S. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 2662.
- Liu, K.; Zhang, J.; Xu, L.; Liu, J.; Ding, L. P.; Liu, T. H.; Fang, Y. *Chem. Commun.* **2019**, 55, 12679.
- Cao, J.; Xinxin Zhao.; Wenge Yang. *Dyes Pigm.* **2019**, 160, 48.
(a) Huace Sheng.; Yonghong Hu.; Yi Zhou.; Shimin Fan.; Yang Cao.; Xinxin Zhao.; Wenge Yang. *Dyes Pigm.* **2019**, 160, 48.
(b) Dai, Y. P.; Xu, K. X.; Wang, C. Y.; Liu, X. Y.; Wang, P. *Supramol. Chem.* **2017**, 29, 315.
(c) Wang, P.; Fu, J. X.; Yao, K.; Chang, Y. X.; Xu, K. X.; Xu, Y. Q. *Sens. Actuators, B* **2018**, 273, 1070.
- (a) Dai, Y. P.; Xu, K. X.; Wang, C. Y.; Liu, X. Y.; Wang, P. *Supramol. Chem.* **2017**, 29, 315.
(b) Wang, P.; Fu, J. X.; Yao, K.; Chang, Y. X.; Xu, K. X.; Xu, Y. Q. *Sens. Actuators, B* **2018**, 273, 1070.
- Bitter, I.; Torok, Z.; Csokai, V.; Grun, A.; Balazs, B.; Toth, G.; Keseru, G. M.; Kovari, Z.; Czugler, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2001, 2861.

- [14] (a) Adam, A.; Haberhauer, G. *Chem.-Eur. J.* **2017**, *23*, 12190.
(b) Hausner, S. H.; Striley, C. A. F.; Krause-Bauer, J. A.; Zimmer, H. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5804.
- [15] Wang, J. C.; Yuan, Y. F.; Zhuo, J. B.; Yang, S. H.; Lin, F. *Chem. J. Chin. Univ.* **2018**, *39*, 889 (in Chinese).
(王吉成, 袁耀锋, 卓继斌, 杨思涵, 林芬, 高等学校化学学报, **2018**, *39*, 889.)
- [16] Dong, L. R.; Wang, S. Y.; Zhang, X. M.; Cheng, J. J.; Yuan, Y. F., *Chem. J. Chin. Univ.* **2019**, *40*, 927 (in Chinese).
(董丽蓉, 王思雨, 张小媚, 成佳佳, 袁耀锋, 高等学校化学学报, **2019**, *40*, 927.)

(Lu, Y.)