

基于氢化吡啶辅助氨基氧化策略的次氯酸根荧光探针的设计、合成及其性能研究

陈志华 胡艳 马丽丽 张子怡 刘传祥*

(上海应用技术大学化学与环境工程学院 上海 201418)

摘要 以喹啉作为荧光团, 乙烯延展并在芳氨基邻位构建氢化吡啶基作为识别位点, 巧妙设计并合成了一种新颖的检测次氯酸根离子的荧光探针 **A4**。光谱实验研究表明, 该荧光探针对于次氯酸盐具有很高的选择性、极强的灵敏度(响应时间 1.6 s)以及低检测限(77.8 nmol/L)。探针 **A4** 和次氯酸盐反应后, 紫外吸收光谱在 421 nm 处的吸收峰蓝移, 溶液颜色由黄色变成无色; 荧光发射光谱在 642 nm 处最大发射峰淬灭, 荧光颜色由橙红色变成无荧光。通过光谱比较以及质谱分析, 确认了该探针识别机理为次氯酸根诱导氨基氧化亚硝基并伴随氢化吡啶转化为吡啶。进一步, 将负载荧光探针 **A4** 的试纸条成功应用于次氯酸盐的检测。此外, 考察了该探针随水含量的增加发生明显的荧光淬灭现象(ACQ)。

关键词 荧光探针; 次氯酸根离子; 氧化; 检测

Rational Design of *ortho*-Vinylhydropyridine-Assisted Amino-fluorophore as Hypochlorite Fluorescent Probe

Chen, Zhihua Hu, Yan Ma, Lili Zhang, Ziyi Liu, Chuanxiang*

(Department of Chemical and Environmental Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418)

Abstract In this paper, a novel fluorescent probe **A4** for the detection of hypochlorite ions was designed and synthesized using quinoline as a fluorophore and *ortho*-vinylhydropyridine auxiliary amino group as a recognition site. Experimental studies show that the fluorescent probe has high selectivity for hypochlorite and extreme sensitivity (response time 1.6 s, limit of detection 77.8 nmol/L). After reacting with hypochlorite, the absorption peak of the UV-vis absorption spectrum at 421 nm was blue-shifted, and the color of the solution changed from yellow to colorless. In the fluorescence emission spectrum, the maximum emission peak at 642 nm was quenched, and the fluorescent color changed from orange red to non-fluorescent. The sensing mechanism was confirmed by liquid chromatograph mass spectrometer (LC-MS) analysis and comparison of UV-vis spectra, which involving the *ortho*-vinylhydropyridine-assisted amido-to-nitroso oxidation reaction. In addition, the **A4**-loaded test strip was prepared and applied on the detection of hypochlorite. Moreover, the probe showed moderate aggregation-caused quenching (ACQ) with increasing of water content.

Keywords fluorescent probe; hypochlorite ion; oxidation; detection

次氯酸盐(ClO^-)是日常生活中常用的消毒剂, 在多种生理和病理过程中也发挥着特殊的作用。次氯酸盐在生物体内是由吞噬细胞过氧化物酶催化过氧化物和氯离子反应生成的一种重要活性氧, 具有杀死多种病原体, 维持体内免疫的功能^[1-3]。然而, 活性氧的产生也会使生物体面临相当大的风险, 因为过多的 ClO^- 会损害宿主细胞^[4-6]。据报道, ClO^- 水平异常可能导致多种疾病, 如动脉粥样硬化、类风湿性关节炎、阿尔茨海默症,

甚至癌症^[7-10]。因此, 越来越多的研究人员对识别和监测 ClO^- 的方法开发产生兴趣。

近十年来, 关于 ClO^- 检测的报道数不胜数, 例如电位测定法、电分析法和化学发光法等^[11-13]。在检测 ClO^- 的各种分析方法中, 小分子荧光探针表现出更大的优势, 由于其独特的特性, 如高选择性、灵敏度、实时检测以及与生物样品的良好相容性而受到广泛关注^[14-15]。迄今为止, 主要采用的检测机理是 ClO^- 介导的具有特

* Corresponding author. E-mail: cxliu@sit.edu.cn

Received May 13, 2022; revised September 13, 2022; published online October 10, 2022.

Project supported by the Natural Science Foundation of Shanghai (No. 17ZR1429900) and the Opening Fund of Shanghai Key Laboratory of Chemical Biology.

上海市自然科学基金(No. 17ZR1429900)和上海市化学生物学重点实验室开放基金资助项目。

定反应位点的氧化反应, 如希夫碱、缺电子 C=C 键、硫族化物、对甲氧基苯酚、茴香胺等^[16-22]. 虽然上述荧光探针的开发机理已获得相当的认可, 但这些探针大多灵敏度低, 响应时间慢, 水溶性差. 因此, 设计一种精确检测 ClO^- 的新型机理的荧光探针仍然具有很大的挑战.

本工作研究了以喹啉作为荧光团, 通过对其结构的优化, 巧妙设计并合成了一个氢化吡啶辅助邻位氨基作为识别位点的新颖 ClO^- 荧光探针 **A4**. 探针借助乙烯基氢化吡啶延展探针的共轭面, 同时辅助激活邻位氨基, 借以在次氯酸根存在下, 将氨基氧化为亚硝基, 同时伴随氢化吡啶转化为吡啶. 该反应机理新颖且尚未见文献报道, 利用 ClO^- 的氧化性将氨基氧化为亚硝基, 探针的推拉电子体系以及共轭面发生明显变化, 因此产生颜色变化以及荧光显著变化. 在测试过程中发现该探针对于次氯酸根离子具有高度选择专一性, 且响应时间较短 (1.6 s), 低于大部分 ClO^- 探针, 检测限也较低 (77.8 nmol/L), 同时探究了该探针在试纸以及水环境中的应用.

1 结果与讨论

1.1 探针 **A4** 的合成路线

探针 **A4** 的合成路线如图 1 所示, 以 2-甲基喹啉、3-硝基-4-溴苯甲醛为原料, 经缩合制得 **A2**, 同时与吡啶-2-乙腈发生取代反应制得 **A3**, 最后在二氯化锡、盐酸下还原 **A3** 使其重排得到目标产物 **A4**^[23].

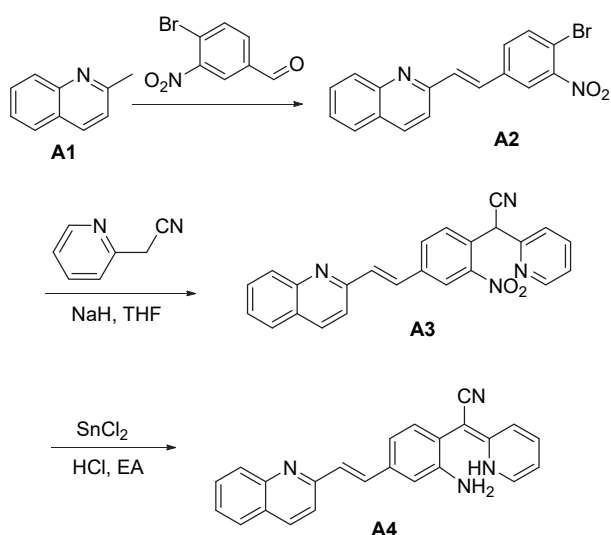


图 1 探针 **A4** 的合成路线
Figure 1 Synthetic route of probe **A4**

1.2 探针 **A4** 识别和检测 ClO^- 的紫外光谱研究

1.2.1 探针 **A4** 的紫外选择性以及紫外滴定实验

在探针 **A4** 的紫外选择性实验中, 首先在 100 mL 容

量瓶中加入 30 mL 乙腈, 然后加入磷酸盐缓冲液(PBS)稀释至刻度, 混合均匀. 向 29 支 10 mL 的玻璃试管中各加入 5 mL 的上述乙腈与 PBS 的混合溶液, 随后向每支试管中加入探针 **A4** 溶液配置成 20 $\mu\text{mol/L}$ 的待测溶液, 1 号试管中不加入任何物质作为对照组, 余下 2~29 号试管依次加入 1.5 equiv. 的各种离子和氧化物溶液(ClO^- , H_2O_2 , HSO_3^- , SH^- , S^{2-} , CN^- , SCN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , HSO_4^- , ClO_4^- , H_2PO_4^- , BF_4^- , AcO^- , NO_2^- , ONOO^- , $^1\text{O}_2$, $^{\bullet}\text{OH}$, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Ba^{2+}), 摇匀后用紫外可见光谱仪检测并记录每支试管的紫外吸收光谱图, 结果如图 2a 所示. 只有加入 ClO^- 的 2 号试管在 421 nm 处的紫外吸收强度明显下降, 同时观察到溶液颜色由黄色变成了无色. 而加入其它离子和氧化物的试管紫外吸收强度并未发生明显变化, 颜色也没有明显变化, 说明探针 **A4** 对 ClO^- 的选择性相当高, 且探针分子的共轭面因次氯酸的氧化而发生变化. 表明探针 **A4** 可以肉眼可见且高度专一性地识别次氯酸根.

为了探究 421 nm 处探针 **A4** 对于次氯酸根离子的响应, 选择不同浓度的 ClO^- 进行试验, 如图 2b 所示. 随着 ClO^- 浓度的增加, 探针 **A4** 在 421 nm 处的紫外吸收强度逐渐下降, 当加入 ClO^- 1.4 equiv. 时, 吸收强度达到最低, 溶液颜色由黄色变为无色. 右上方插图表示探针 **A4** 421 nm 处的紫外吸收强度和 ClO^- 的浓度存在良好的线性关系.

1.3 探针 **A4** 识别和检测 ClO^- 的荧光光谱研究

1.3.1 探针 **A4** 的荧光选择性实验以及荧光发射谱图

运用上述紫外选择性样品制备条件进行了荧光选择性以及荧光滴定实验研究. 同样在 29 个试管中用 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液将探针 **A4** 稀释成 20 $\mu\text{mol/L}$ 的待测溶液, 1 号试管同样作为对照组, 不加入任何物质. 其它 2~29 号试管分别加入 1.5 equiv. 的各种离子和氧化物溶液(ClO^- , H_2O_2 , HSO_3^- , SH^- , S^{2-} , CN^- , SCN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , HSO_4^- , ClO_4^- , H_2PO_4^- , BF_4^- , AcO^- , NO_2^- , ONOO^- , $^1\text{O}_2$, $^{\bullet}\text{OH}$, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Ba^{2+}), 然后用荧光光谱仪对每支试管进行测试并记录数据, 得到如图 3a 所示的荧光发射光谱图. 从图中可以清楚地看到探针 **A4** 与 1.5 equiv. ClO^- 反应后, 在 642 nm 处最大荧光发射淬灭, 而其它离子和氧化物均不能使探针 **A4** 最大荧光发射强度产生明显变化. 图 3a 上方插图表示: 探针 **A4** 与各种离子和氧化物反应的荧光颜色变化. 同样只有 ClO^- 能使探针 **A4** 荧光颜色由橙红色变为无荧光, 说明探针 **A4** 对次氯酸根离子有很高的荧光选择性.

为了探究 642 nm 处探针 **A4** 对于次氯酸根离子的响应, 选择不同浓度的 ClO^- 进行试验, 如图 3b 所示. 随着

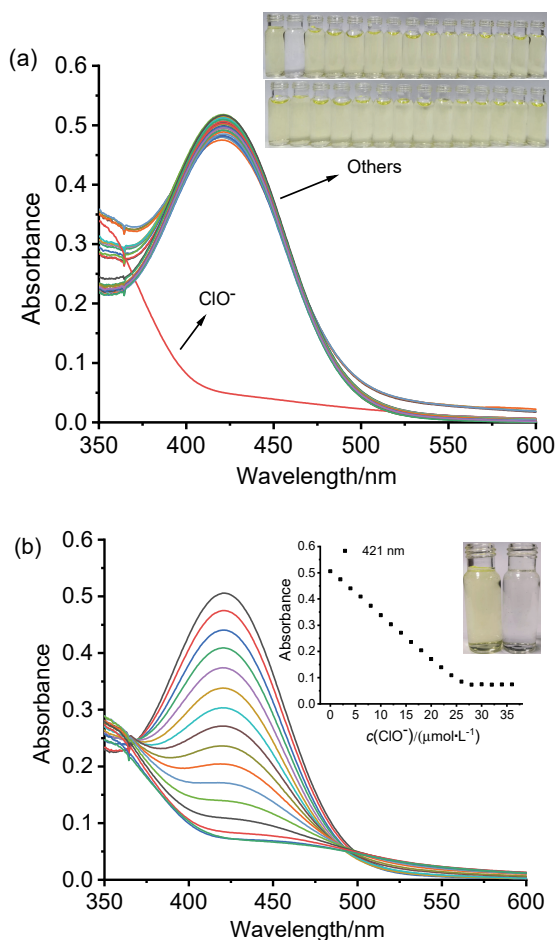


图 2 (a) 探针 **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) 与各种离子和氧化物在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中的紫外选择性测试图谱, 以及 (b) 探针 **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) 在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中与不同浓度 NaClO (0 到 1.5 equiv.) 条件下测得的紫外吸收光谱

Figure 2 (a) UV-selectivity test profiles of probe **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) with various ions and oxides in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) solutions, and (b) probe **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) UV absorption spectra measured in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) solution with different concentrations of NaClO (0 to 1.5 equiv.)

(a) The upper illustration shows the color change of pure probe **A4** reacting with various ions and oxides (ClO^- , H_2O_2 , HSO_3^- , SH^- , S^{2-} , CN^- , SCN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , HSO_4^- , ClO_4^- , H_2PO_4^- , BF_4^- , AcO^- , NO_2^- , ONOO^- , $^1\text{O}_2$, $^{\cdot}\text{OH}$, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Ba^{2+}) in a solution of $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$); (b) the upper right illustration shows the scatter diagram of UV absorption of probe **A4** at 421 nm as a function of NaClO concentration

次氯酸根离子浓度的增加, 探针 **A4** 在 642 nm 处的最大荧光发射逐渐下降, 在 1.4 equiv. 达到饱和, 荧光颜色从橙红色变成无荧光. 这是由于 ClO^- 的强氧化性将探针 **A4** 结构中的氨基氧化成亚硝基, 导致分子内电荷转移 (ICT) 关闭, 所以探针 **A4** 与 ClO^- 反应后荧光淬灭. 图 3b 右上方插图表示: 在 642 nm 处探针 **A4** 荧光强度与次氯酸根离子的浓度关系. 按照公式 $\text{LOD}=3\sigma/k$ 计算检测限为 77.8 nmol/L, 检测限较低, 说明探针 **A4** 可以很好的应用于次氯酸根离子的检测.

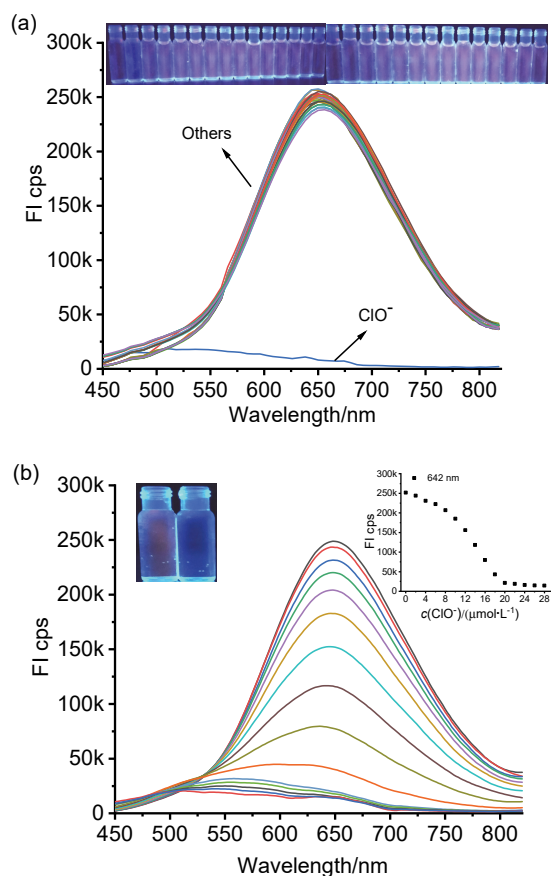


图 3 (a) 探针 **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) 与各种离子和氧化物在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中的荧光发射光谱图. (b) 探针 **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) 在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中, 与不同浓度 NaClO (0 到 1.4 equiv.) 条件下测得的荧光发射光谱

Figure 3 (a) Fluorescence emission spectra of probe **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) with various ions and oxides in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$), and (b) fluorescence emission spectra of probe **A4** (20 $\mu\text{mol/L}$) were measured at different concentrations of NaClO (0 to 1.4 equiv.) in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$)

(a) The upper illustration shows the fluorescence color change of probe **A4** reacting with various ions and oxides (ClO^- , H_2O_2 , HSO_3^- , SH^- , S^{2-} , CN^- , SCN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , HSO_4^- , ClO_4^- , H_2PO_4^- , BF_4^- , AcO^- , NO_2^- , ONOO^- , $^1\text{O}_2$, $^{\cdot}\text{OH}$, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Ba^{2+}) in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$); (b) The upper right inset indicates the relationship chart between fluorescence emission of probe **A4** at 642 nm and NaClO concentration ($\lambda_{\text{ex}}=410\text{ nm}$)

1.4 探针 **A4** 对次氯酸根离子响应时间及 pH 影响

为了进一步研究探针 **A4** 对于次氯酸根离子的灵敏性, 探究了探针 **A4** 的响应时间. 将探针 **A4** 在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中配置成 20 $\mu\text{mol/L}$ 的待测溶液, 将 1.5 equiv. 的次氯酸根离子加入上述溶液中并马上开始扫描 642 nm 下的探针荧光强度, 得到相应的荧光强度与时间的关系图, 如图 4a 所示. 探针 **A4** 在 642 nm 处的荧光强度在 1.6 s 内淬灭, 可见探针 **A4** 对于检测次氯酸根离子非常灵敏.

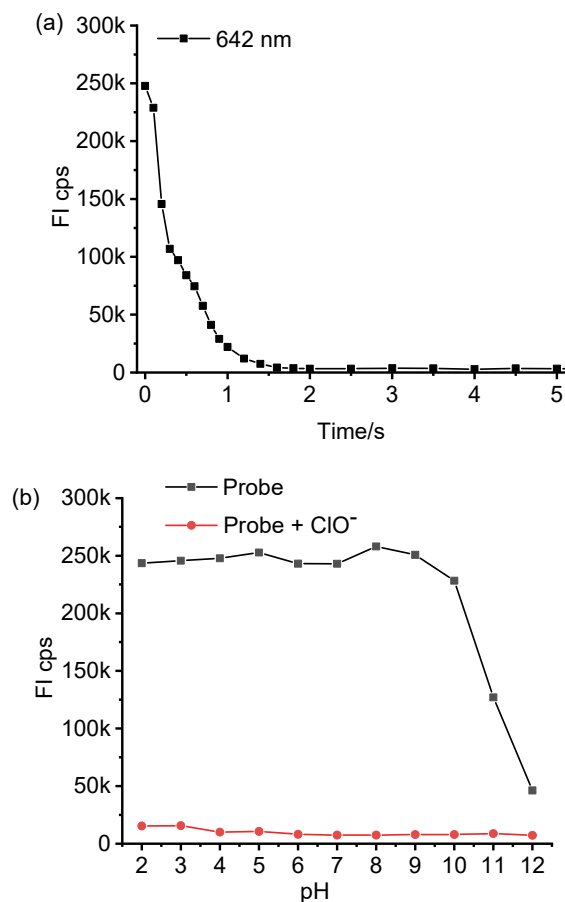


图 4 (a)在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中探针 **A4** ($20\ \mu\text{mol/L}$) 在 $642\ \text{nm}$ 处的最大荧光发射与时间的关系图, 以及 (b)在不同 pH 条件下探针 **A4** ($20\ \mu\text{mol/L}$) 和 NaClO ($1.5\ \text{equiv.}$) 反应后在 $642\ \text{nm}$ 处的荧光强度与 pH 的关系图($\lambda_{\text{ex}}=410\ \text{nm}$)
Figure 4 Relationship chart between maximum fluorescence emission of probe **A4** ($20\ \mu\text{mol/L}$) at $642\ \text{nm}$ in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$), and (b) relationship between fluorescence intensity of probe **A4** ($20\ \mu\text{mol/L}$) and NaClO ($1.5\ \text{equiv.}$) at $642\ \text{nm}$ and under different pH conditions ($\lambda_{\text{ex}}=410\ \text{nm}$)

为了探究溶液酸碱度对于探针 **A4** 检测次氯酸根离子的影响, 首先准备 11 根 $10\ \text{mL}$ 试管, 向每支试管中加入不同 pH 的水溶液 $3.5\ \text{mL}$, 然后向每支试管中加入 $1.5\ \text{mL}$ 乙腈, 随后向每支试管中加入 $20\ \mu\text{L}$ $5000\ \mu\text{mol/L}$ 的探针 **A4**. 混合均匀后, 分别扫描每支试管的荧光光谱, 然后向每支试管中加入 $1.5\ \text{equiv.}$ 的次氯酸根离子, 再次扫描每支试管的荧光光谱. 将探针 $642\ \text{nm}$ 下的荧光强度作为纵坐标, pH 为横坐标作图. 如图 4b, 在 pH $2\sim9$ 范围内, 探针 **A4** 在波长 $642\ \text{nm}$ 下的荧光强度基本没有影响, 而在 pH $10\sim12$ 强碱性条件下, 可能由于氨基脱质子的发生破坏了探针的推拉电子体系, 因此荧光强度影响较大. 在 pH $6\sim8$ 条件下均不影响探针 **A4** 与次氯酸根离子的反应, 表明探针 **A4** 对溶液酸碱度的耐受性较强, 可以在生理条件下使用.

1.5 探针 **A4** 对水含量的响应

在测试过程中, 发现水含量对于探针 **A4** 的荧光强度影响较大. 如图 5 所示, 随着含水量的提高, 探针 **A4** 的最大荧光发射强度逐渐降低, 这可能是因为探针 **A4** 分子结构中氨基和 NH 基可以与 H_2O 形成分子间氢键, 进而发生聚集, 而且探针在水溶液中溶解性不好, 聚集后引起相邻分子间轨道的相互作用, 导致探针 **A4** 荧光淬灭(ACQ).

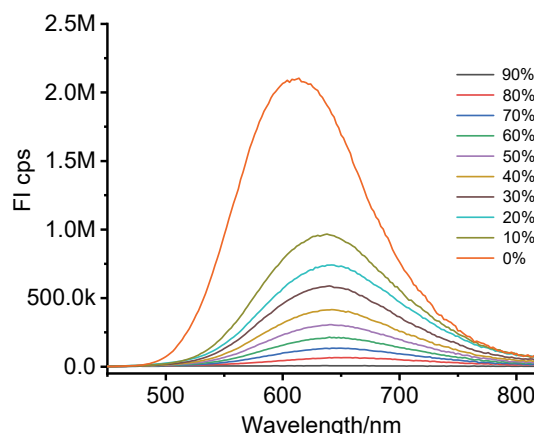


图 5 在不同水含量(体积分数为 $0\sim90\%$)的溶液中探针 **A4** ($20\ \mu\text{mol/L}$) 的荧光光谱图($\lambda_{\text{ex}}=410\ \text{nm}$)
Figure 5 Fluorescence spectra of probe **A4** ($20\ \mu\text{mol/L}$) in solutions with different water contents (volume fraction $0\sim90\%$) ($\lambda_{\text{ex}}=410\ \text{nm}$)

1.6 探针 **A4** 对次氯酸根离子识别的机理研究

由于 ClO^- 具有很强的氧化性, 导致氨基很容易被氧化, 因此推测探针 **A4** 与 ClO^- 的识别机理如图 6 所示. ClO^- 的氧化使苯氨基被氧化成亚硝基, 分子内电荷转移(ICT)关闭, 溶液颜色和荧光发生变化. 为了验证这种机理做了紫外吸收光谱和质谱, 最终通过探针 **A4** 与 ClO^- 反应后的紫外吸收光谱和中间产物 **A3** 的紫外吸收光谱对比, 以及探针 **A4** 和 ClO^- 反应的质谱图, 成功地证明了该探针识别机理为次氯酸根诱导氨基氧化亚硝基, 并伴随氢化吡啶转化为吡啶.

1.6.1 **A4** 和与次氯酸根离子反应后的吸收光谱与中间体 **A3** 对比

如图 7 所示, 探针 **A4** 和与次氯酸根离子反应后的吸收光谱与中间体 **A3** 的吸收光谱基本一致, 但又不完全重合. 因此推测探针 **A4** 与 ClO^- 作用后生成了与 **A3** 类似的亚硝基产物.

1.6.2 探针 **A4** 与次氯酸根离子作用过程的监控

为了进一步确定探针 **A4** 与 ClO^- 作用的机理, 通过液质联用波谱仪(LC-MS)对该反应进行监测. 如图 8 所示, 在质谱图中找到了亚硝基氧化产物 $[\text{A5}+\text{H}]^+$ 377.1

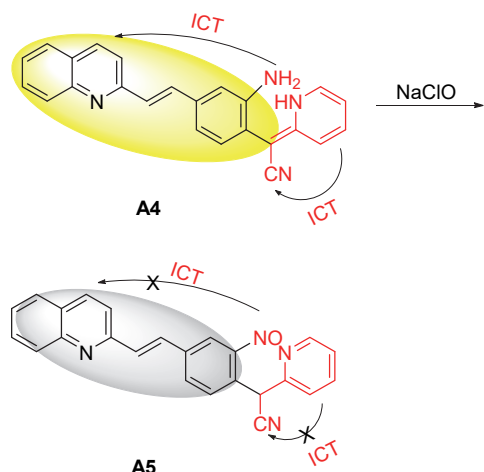


图6 探针 A4 与次氯酸根离子作用的机理图

Figure 6 Mechanism of the probe A4 with hypochlorite ion

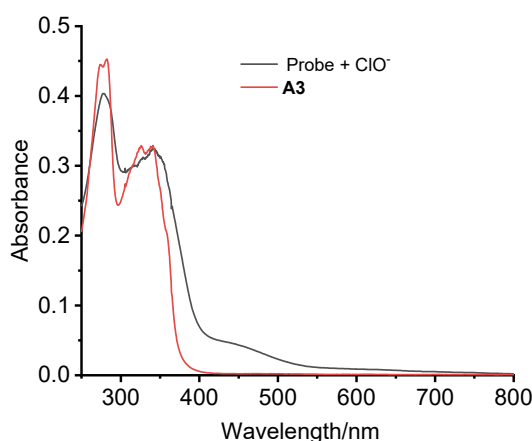


图7 探针 A4 和次氯酸根离子反应后的吸收光谱与中间体 A3 的吸收光谱对比图

Figure 7 Comparison of absorption spectra of probe A4 after reaction with hypochlorite ion and intermediate A3

以及 $[A5-H]^-$ 375.1. 因此确定了探针 A4 对 ClO^- 识别是基于次氯酸根离子的氧化, 导致氨基被氧化成亚硝基, 分子内电荷转移关闭, 从而达到检测 ClO^- 的作用.

1.7 探针 A4 试纸测试

将探针 A4 负载到试纸制备试纸条: 首先, 将精密滤纸裁剪成条状(长 3 cm, 宽 1.5 cm)若干备用, 然后将条状滤纸浸入探针 A4 的溶液(20 $\mu\text{mol/L}$)中约 1 h, 让探针充分附着在滤纸表面, 制成试纸条. 取出晾干后, 分别将试纸浸入不同浓度的次氯酸根离子溶液中 10 min, 随后取出, 分别在日光灯和紫外灯下拍摄试纸条颜色和荧光变化. 结果如图 9 所示, 试纸条起初为黄色, 浸入 ClO^- 溶液后颜色变浅, 最终变为无色; 而在紫外灯下, 荧光颜色起初为橙红色, 随着 ClO^- 溶液浓度增加, 最终

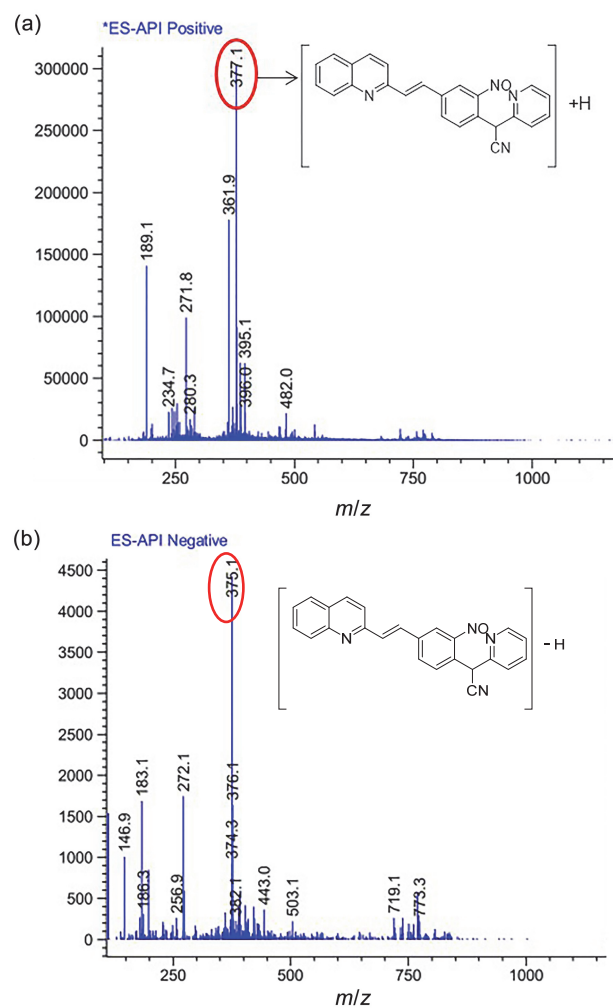


图8 探针 A4 与次氯酸根离子作用后的质谱图

Figure 8 MS of probe A4 with hypochlorite ion

变为无荧光, 表明该探针也适用于试纸检测, 有潜在的实用价值.

2 结论

在喹啉荧光团上, 成功地开发了一种芳氨基邻位构建氢化吡啶基的次氯酸根离子荧光探针 A4. 在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{PBS}$ ($V:V=3:7$) 的溶液中, 研究了该探针和次氯酸盐作用前后的光谱和颜色变化. 结果表明探针 A4 对次氯酸盐具有很高的选择性、极高的灵敏度、极低的检测限. 该探针识别机理为次氯酸根诱导氨基氧化亚硝基, 并伴随氢化吡啶转化为吡啶, 机理新颖, 且文献尚未报道, 同时, 将负载荧光探针 A4 的试纸条成功应用于次氯酸盐的检测. 此外, 也考察了该探针随水含量的增加发生明显的荧光淬灭现象(ACQ). 进一步, 设计和发展基于芳氨基邻位构建氢化吡啶基的次氯酸根离子荧光探针的工作正在推进中.

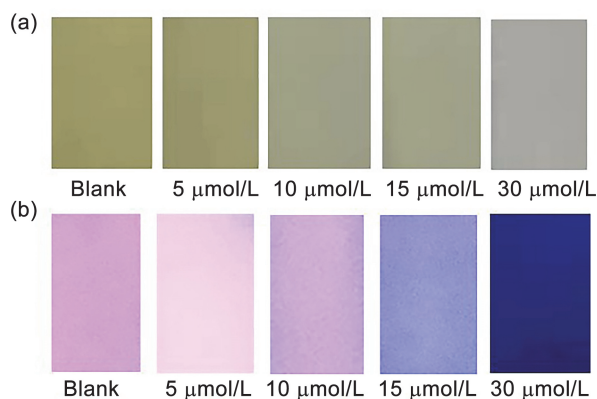


图9 (a)日光灯照射下含有探针 A4 的试纸与不同浓度的 ClO^- 溶液反应后的颜色变化图, 以及(b)紫外灯照射下含有探针 A4 的试纸与不同浓度的 ClO^- 溶液反应后的荧光颜色变化图.

Figure 9 (a) Color change of the test paper containing probe A4 after reaction with different concentrations of ClO^- solution under the illumination of fluorescent lamps, and (b) fluorescence color change of the test paper containing probe A4 after reaction with ClO^- solutions of different concentrations under UV light irradiation

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

布鲁克 solanx 70 FT-MS 高分辨质谱仪; Quantum-I plus NMR (400 MHz)型核磁共振仪; 岛津 UV-1800 型紫外光谱仪; 日立 F-4600 荧光光谱仪等. 乙腈、乙酸乙酯、无水四氢呋喃、二氯化锡、盐酸、氢化钠、3-硝基-4-溴苯甲醛、2-甲基喹啉、吡啶-2-乙腈和各种不同阴离子的四丁基铵盐等.

3.2 实验方法

3.2.1 A2 的合成

将 2-甲基喹啉(5 g, 34.92 mmol)和 3-硝基-4-溴苯甲醛(8.03 g, 34.92 mmol)加入 100 mL 圆底烧瓶中, 氮气氛围下在 140 °C 下加热搅拌 12 h, 冷却至室温后加入 50 mL 无水乙醇洗涤、过滤、收集滤饼、烘干. 为了进一步提纯, 采用无水乙醇重结晶得到 A2 10.5 g, 产率 84.6%. 浅黄色固体, m.p. 154~156 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.13 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.78 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.65~7.55 (m, 3H), 7.51 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J=16.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 154.51, 150.15, 148.29, 137.48, 136.82, 135.47, 132.25, 131.19, 130.48, 130.16, 129.41, 127.69, 127.68, 126.85, 123.80, 119.79, 113.71. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{Br}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 355.0077, found 355.0078.

3.2.2 A3 的合成

参考文献[23], 将氢化钠(900 mg, 22.52 mmol)、2-吡啶乙腈(798 mg, 6.76 mmol)和无水四氢呋喃(30 mL)加入 100 mL 干燥的三口烧瓶中, N_2 置换 3 次, 常温下搅拌 0.5 h, 然后加入化合物 A2 (2 g 5.63 mmol), 氮气置换 3 次, 常温下继续搅拌 2 h, 通过薄层色谱监测反应进程. 反应完全后, 加入饱和柠檬酸水溶液调节 pH 到弱酸性 (pH 5~6), 用乙酸乙酯萃取, 收集有机相, 饱和食盐水洗涤 3 次, 用无水硫酸钠干燥. 最后, 将干燥的溶液旋干硅胶拌样过柱(石油醚/乙酸乙酯, $V:V=3:1$)纯化, 得到 A3 1.68 g, 产率 72.7%. 棕色固体, m.p. 142~144 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.56 (d, $J=4.6$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J=3.8$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.87 (s, 2H), 7.78~7.74 (m, 2H), 7.71 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 7.65~7.59 (m, 2H), 7.52 (d, $J=3.9$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.32 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 154.44, 153.30, 150.18, 148.20, 148.05, 138.68, 137.62, 136.69, 132.58, 131.96, 131.93, 130.44, 130.05, 129.35, 128.38, 127.63, 127.60, 126.77, 123.67, 123.49, 122.62, 119.72, 118.17, 41.01. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 393.1346, found 393.1344.

3.2.3 A4 的合成

参考文献[23], 将化合物 A3 (1.2g 3.06 mmol)和乙酸乙酯(30 mL)在 100 mL 圆底烧瓶中搅拌 0.5 h, 然后加入 SnCl_2 (2.90 g 15.29 mmol)和 0.5 mL 浓盐酸, 氮气置换 3 次, 在 80 °C 下回流 4 h, 薄层色谱追踪反应进程, 反应完成后, 加入碳酸钠水溶液调节 pH 到弱碱性 (pH 8~9)过滤, 用乙酸乙酯洗涤. 加入 100 mL 乙酸乙酯, 收集有机相, 饱和食盐水洗涤, 用无水硫酸钠干燥. 最后, 将干燥的溶液真空除去溶剂, 通过柱色谱纯化(石油醚/乙酸乙酯, $V:V=1:1$)得到 A4 0.53 g, 产率 47.7%. 黄色固体, m.p. 143~145 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.77 (s, 1H), 8.47 (d, $J=4.9$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.91~7.82 (m, 3H), 7.74~7.66 (m, 3H), 7.69 (d, $J=17.6$ Hz, 1H), 7.55~7.48 (m, 2H), 7.41~7.33 (m, 3H), 7.32 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 6.93 (q, $J=4.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 156.71, 156.55, 150.65, 148.08, 147.88, 136.50, 136.22, 136.15, 133.61, 129.75, 128.48, 127.81, 127.80, 126.79, 126.33, 125.67, 124.12, 120.43, 119.72, 117.90, 116.58, 116.33, 108.45, 91.17. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 363.1606, found 363.1604

辅助材料(Supporting Information) 化合物 A2~A4 的

^1H NMR, ^{13}C NMR, HRMS-ESI 图谱及探针 **A4** 的其他实验数据, 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Song, W.; Dong, B.; Lu, Y.; Kong, X.; Mehmood, A. H.; Lin, W. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 12103.
- [2] Cheng, T.; Zhao, J.; Wang, Z.; An, J.; Xu, Y.; Qian, X.; Liu, G. *Dyes Pigm.* **2016**, *126*, 218.
- [3] Pattison, D. I.; Hawkins, C. L.; Davies, M. J. *Chem. Res. Toxicol.* **2009**, *22*, 807.
- [4] Maitra, D.; Byun, J.; Andreana, P. R.; Abdulhamid, I.; Saed, G. M.; Diamond, M. P.; Pennathur, S.; Abu-Soud, H. M. *Free Radical Biol. Med.* **2011**, *51*, 364.
- [5] Wright, A. F.; Jacobson, S. G.; Cideciyan, A. V.; Roman, A. J.; Shu, X.; Vlachantoni, D.; McInnes, R. R.; Riemersma, R. A. *Nat. Genet.* **2004**, *36*, 1153.
- [6] Hazell, L. J.; Arnold, L.; Flowers, D.; Waeg, G.; Malle, E.; Stocker, R. J. *Clin. Invest.* **1996**, *97*, 1535.
- [7] Wu, S. M.; Pizzo, S. V. *Arch. Biochem. Biophys.* **2001**, *391*, 119.
- [8] Casciaro, M.; Di Salvo, E.; Pace, E.; Ventura-Spagnolo, E.; Navarra, M.; Gangemi, S. *Immun. Ageing* **2017**, *14*, 21.
- [9] Güngör, N.; Knaapen, A. M.; Munnia, A.; Peluso, M.; Haenen, G. R.; Chiu, R. K. *Mutagenesis* **2009**, *25*, 149.
- [10] Jin, L.; Tan, X.; Dai, L.; Sheng, L.; Wang, Q. *RSC Adv.* **2019**, *9*, 15926.
- [11] Cheng, D.; Pan, Y.; Wang, L.; Zeng, Z.; Yuan, L.; Zhang, X.; Chang, Y.-T. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 285.
- [12] Song, Z.; Kwok, R. T. K.; Ding, D.; Nie, H.; Lam, J. W. Y.; Liu, B.; Tang, B. Z. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 10076.
- [13] He, X.; Chen, H.; Xu, C.; Fan, J.; Xu, W.; Li, Y.; Deng, H.; Shen, J. *J. Hazard. Mater.* **2020**, *388*, 122029.
- [14] Bhatnagar, S.; Khera, E.; Liao, J.; Eniola, V.; Hu, Y.; Smith, D. E.; Thurber, G. M. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 4661.
- [15] Liu, S.; Zhu, Y.; Wu, P.; Xiong, H. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 4975.
- [16] He, L.; Xiong, H.; Wang, B.; Zhang, Y.; Wang, J.; Zhang, H.; Li, H.; Yang, Z.; Song, X. *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 11029.
- [17] Liu, L.; Wei, P.; Yuan, W.; Liu, Z.; Xue, F.; Zhang, X.; Yi, T. *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 10971.
- [18] Wei, P.; Liu, L.; Wen, Y.; Zhao, G.; Xue, F.; Yuan, W.; Li, R.; Zhong, Y.; Zhang, M.; Yi, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, *58*, 4547.
- [19] Gao, Y.; Pan, Y.; He, Y.; Chen, H.; Nemykin, V. N. *Sens. Actuators, B* **2018**, *269*, 151.
- [20] Wang, B.; Zhang, F.; Wang, S.; Yang, R.; Chen, C.; Zhao, W. *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 2598.
- [21] Wu, P.; Zhu, Y.; Chen, L.; Tian, Y.; Xiong, H. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 13014.
- [22] Ma, C.; Hou, S.; Zhou, X.; Wang, Z.; Yoon, J. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 9640.
- [23] Zhang, C.; Ji, K.; Wang, X.; Wu, H.; Liu, C. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 8173.

(Lu, Y.)