

潘赫汝,宋慧姣,成奋民,等. 基于氧杂蒽的 H_2S 近红外荧光探针的合成与性能[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2025, 40(1):118-124. doi:10.13582/j.cnki.1672-9102.2025.01.015

PAN H R, SONG H J, CHENG F M, et al. Synthesis and Properties of H_2S Near-Infrared Fluorescent Probes Based on Xanthines [J]. Journal of Hunan University of Science and Technology (Natural Science Edition), 2025, 40(1):118-124. doi:10.13582/j.cnki.1672-9102.2025.01.015

基于氧杂蒽的 H_2S 近红外荧光探针的合成与性能

潘赫汝,宋慧姣,成奋民,郝远强,陈述,曾荣今,张培盛*

(湖南科技大学 化学化工学院, 湖南 湘潭 411201)

摘要: 文章设计并合成了一种检测硫化氢(H_2S)的近红外荧光探针 XI- H_2S 。探针 XI- H_2S 是由以氧杂蒽为骨架的近红外荧光团 XI-OH 和对 H_2S 响应的响应基团 2,4-二硝基苯磺酰基组成。由于 2,4-二硝基苯磺酰基有强吸电子效应,会将探针的 ICT 过程打断, H_2S 可以使苯磺酰基疏解,使探针的 ICT 过程恢复,产生明显的近红外荧光信号,实现荧光从无到有的变化。荧光探针 XI- H_2S 具有发射波波长(716 nm)、选择性好、响应速度快、抗干扰性强和检测限低(651 nM)等优点,同时探针 XI- H_2S 可被应用于不同水样中 H_2S 的检测。

关键词: 硫化氢;氧杂蒽;近红外;荧光探针

中图分类号: TQ31; O63

文献标志码: A

文章编号: 1672-9102(2025)01-0118-07

Synthesis and Properties of H_2S Near-infrared Fluorescent Probes Based on Xanthines

PAN Heru, SONG Huijiao, CHENG Fenmin, HAO Yuanqiang, CHEN Shu, ZENG Rongjin, ZHANG Peisheng
(School of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract: A near infrared fluorescence probe XI- H_2S for detecting hydrogen sulfide (H_2S) is designed and synthesized in this paper. The probe XI- H_2S is composed of a near-infrared fluorophore XI-OH with oxanthracene as the skeleton and a response group of 2,4-dinitrobenzene sulfonyl in response to H_2S . Due to the strong electron absorption effect of 2,4-dinitrobenzene sulfonyl group, the ICT process of the probe will be interrupted. H_2S can thiolize benzene sulfonyl group, restore the ICT process of the probe, produce obvious near-infrared fluorescence signal, and realize the change of fluorescence from zero to zero. Fluorescent probe XI- H_2S has the advantages of long emission wavelength (716 nm), good selectivity, fast response speed, strong anti-interference, and low detection limit (651 nM), etc. At the same time, the probe XI- H_2S has been applied to the detection of H_2S in different water samples.

Keywords: hydrogen sulfide; Xanthines; near-infrared; fluorescent probe

硫化氢(H_2S)是一种具有臭鸡蛋气味的气体,空气中硫化氢的安全临界浓度应小于 10×10^{-6} ,当人在长期接触过量的 H_2S 时,可能会中毒,甚至会有丧失意识、呼吸衰竭等症状^[1-3]。此外,工业废水中所含的

收稿日期: 2024-03-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52173278;52273290);湖南省自然科学基金资助项目(2024JJ2033)

* 通信作者, E-mail: pshzhang07@gmail.com

H₂S 是一种极为危险的神经毒素,具有显著的安全隐患^[4-5].目前,用于检测 H₂S 的方法有电化学法^[6]、比色法^[7]、气相色谱法^[8]等,但这些方法操作不便,检测特异性不强,限制了其应用.因此,如何在环境中方便快捷地进行特异性检测 H₂S 成为研究重点.

荧光探针具有操作简单、反应迅速、选择性高、实时成像等特点,已经被广泛应用于各种环境下的 H₂S 检测^[9-10].目前,所报道的检测 H₂S 荧光探针的发射波长集中在可见光区,会在各种环境中发生吸收和散射,容易受到各种干扰;在各种染料中,发射波长在近红外(650~900 nm)波长的荧光染料由于具有较强的抗干扰能力,被设计成各种荧光探针^[11-14].

氧杂蒽类荧光染料是一种具有高度共轭性和稳定性的芳香环,能够提供良好的电子传输性能和荧光性能,引入氧杂原子可以改变蒽骨架的电子密度分布,调节分子的电子结构和荧光发射波长^[15-16].由于其分子结构的特殊性质,氧杂蒽类染料在激发后可以发出稳定的荧光信号,在近红外区域有较高的荧光量子产率和较长的荧光寿命^[17].氧杂蒽类染料还具有较好的化学稳定性,能够在不同的环境条件下保持其良好的荧光性能.同时,氧杂蒽染料具有多种修饰位点,可以通过在不同的位点引入各种识别基团,达到对标志物的检测^[18-21].

基于此,设计并合成了一种检测 H₂S 的近红外荧光探针 XI-H₂S.探针 XI-H₂S 有一个以氧杂蒽为骨架的近红外荧光团 XI-OH,然后在荧光团的羟基上引入 2,4-二硝基苯磺酰基作为 H₂S 的识别位点.由于 2,4-二硝基苯磺酰基有强吸电子效应,会将荧光团的 ICT 过程打断,导致探针 XI-H₂S 没有荧光;加入 H₂S 后可以使磺酰基水解,荧光团的 ICT 过程恢复,产生明显的近红外荧光信号,实现对 H₂S 的检测.荧光探针 XI-H₂S 具有发射波长短(716 nm)、选择性好、响应速度快、抗干扰性强、检测限低(651 nM)等优点,同时探针 XI-H₂S 被应用于不同水样中 H₂S 的检测.

1 试验部分

1.1 合成路线

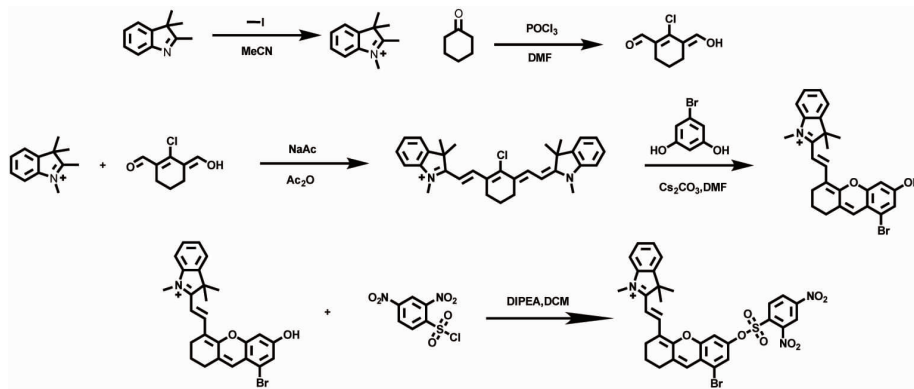


图1 XI-H₂S 的合成路线

1.2 仪器和试剂

仪器:Bruker Avance 400 MHz 核磁共振仪(美国布鲁克公司)、Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱分析仪(赛默飞世尔科技公司)、RF-5301pc 型荧光光谱仪(日本岛津公司)、UV-2501PC 型 UV-Vis 吸收光谱仪(日本岛津公司)、EL-20 型 pH 计(梅特勒托利仪器有限公司).

试剂:N,N-二甲基甲酰胺(色谱级)、环己酮(分析纯)、三氯氧磷(99.5%)、醋酸钠(99.5%)、5-溴间苯二酚、2,4-二硝基苯磺酰氯(98%)购自希恩思、麦克林,四氢呋喃、石油醚、二氯甲烷和无水乙醇(分析纯,AR,国药集团化学试剂有限公司).

1.3 XI-H₂S 及其中间产物的合成与表征

中间产物 Hy-Cl, Cy7 参考已报道的文献合成(图1)^[22].

合成 XI-OH:取 2 口烧瓶,将 5-溴间苯二酚(540 mg, 2.9 mmol)溶于 40 mL 的 DMF 中,然后加入 1 mL 的三乙胺,充 N₂ 并在室温下搅拌 10 min.随后用注射器将溶于 20 mL DMF 中的 Cy7(1 g, 1.6 mmol)溶液缓慢加入反应液中,85 °C 反应 3 h.反应结束后,旋蒸除去溶剂,粗产物用层析柱提纯,展开剂为二氯甲烷:甲醇=

30 : 1/ V : V , 得到蓝色固体为化合物 XI-OH (549 mg, 产率 59%). 化合物 XI-OH 的结构通过质谱和核磁共振氢谱、碳谱进行了表征, 如图 2 所示. 质谱 MS (ESI): $C_{26}H_{25}BrNO_2^+ ([M]^+)$, 实测值为 462.15.

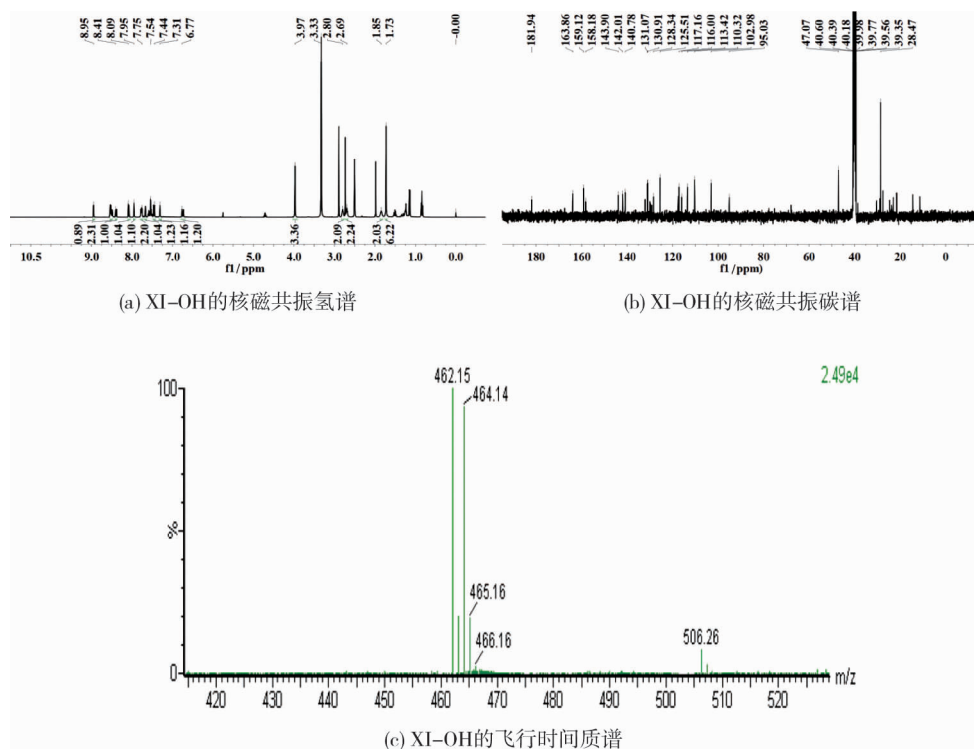


图 2 XI-OH 的结构表征

合成 XI- H_2S : 将 XI-OH (46.2 mg, 0.1 mmol) 溶解于 5 mL 二氯甲烷中, 加入三乙胺 (146 μ L, 1.052 mmol), 将 2,4-二硝基苯磺酰氯 (140 mg, 0.526 mmol) 用 2 mL 二氯甲烷溶解后缓慢滴加, 在 N_2 氛围下常温反应过夜. 反应结束后, 旋蒸除去溶剂, 粗产物用层析柱提纯. 展开剂为二氯甲烷 : 甲醇 = 15 : 1/ V : V , 得到紫色固体为化合物 XI- H_2S (53 mg, 产率 72%). 化合物 XI- H_2S 的结构通过质谱和核磁共振氢谱、碳谱进行了表征, 如图 3 所示. 质谱 MS (ESI): $C_{32}H_{27}BrN_3O_8S^+ ([M]^+)$, 理论值 693.54, 实测值为 693.27.

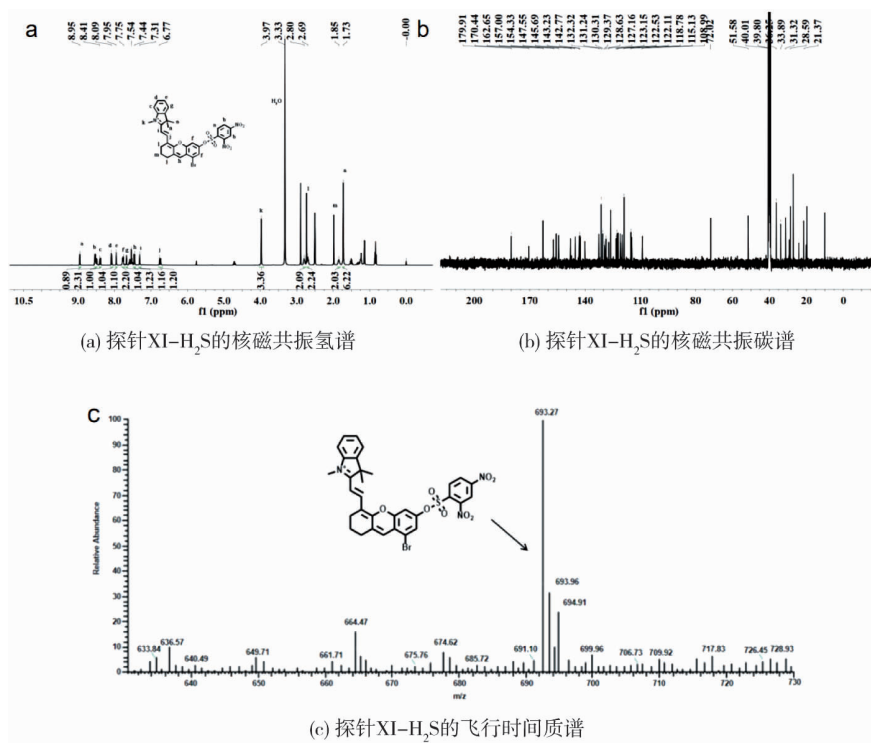


图 3 XI- H_2S 的结构表征

1.4 测试过程

除特殊说明之外,本章节的光谱试验均是在 PBS 缓冲溶液 (10 mM, pH = 7, 10% DMSO) 中进行的.操作如下:将 XI- H_2S 溶于 DMSO 中使其母液浓度为 10 mM,然后取 3 μL 的 XI- H_2S 母液溶于 297 μL 的 DMSO 中,加入 1 mL 的 PBS 缓冲溶液,随后加入适量的 H_2S 溶液 (1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100 μM),最后用 PBS 缓冲溶液将溶液体积调整到 3 mL.所得测试溶液中 XI- H_2S 的浓度为 10 μM ,放入石英比色皿中进行紫外吸收及荧光测试.

2 结果与讨论

2.1 荧光性能

图 4(a)是探针 XI- H_2S (10 μM) 在加入 H_2S (100 μM) 之后其紫外吸收光谱图的变化情况,随着 H_2S 溶液的加入,探针 XI- H_2S 的吸收峰发生了明显的变化,这是由于探针 XI- H_2S 与 H_2S 反应之后,2,4-二硝基苯磺酰基断裂,从而导致其紫外吸收光谱发生变化.由图 4(b)可知:在未加入 H_2S 前体系基本上没有荧光,加入 H_2S 之后,探针 CyCl- NO_2 对 0~100 μM 范围的 H_2S 均有响应,且随着 H_2S 的浓度增加,体系在 160 nm 处的荧光强度也缓慢增强,这说明该探针是一个明显的“turn-on”型荧光探针.然后使用荧光滴定法对探针 XI- H_2S 的荧光强度与 H_2S 的浓度之间的线性关系进行测试,同时还测试了 10 次没有加入 H_2S 溶液的探针溶液的荧光强度,通过计算得出其标准偏差 (SD) 为 495.748 36.线性拟合结果如图 4(c) 所示.通过公式 $\text{LOD} = 3\text{SD}/K$ 计算得出其检测下限为 651 nm.如图 4(d) 所示,我们对探针 XI- H_2S 的检测下限进行了验证,测试了探针 XI- H_2S (10 μM) 的荧光强度在加入 H_2S (1~5 μM) 之后的变化,发现探针 XI- H_2S 对低浓度的 H_2S 也有响应,比较符合计算的检测下限.

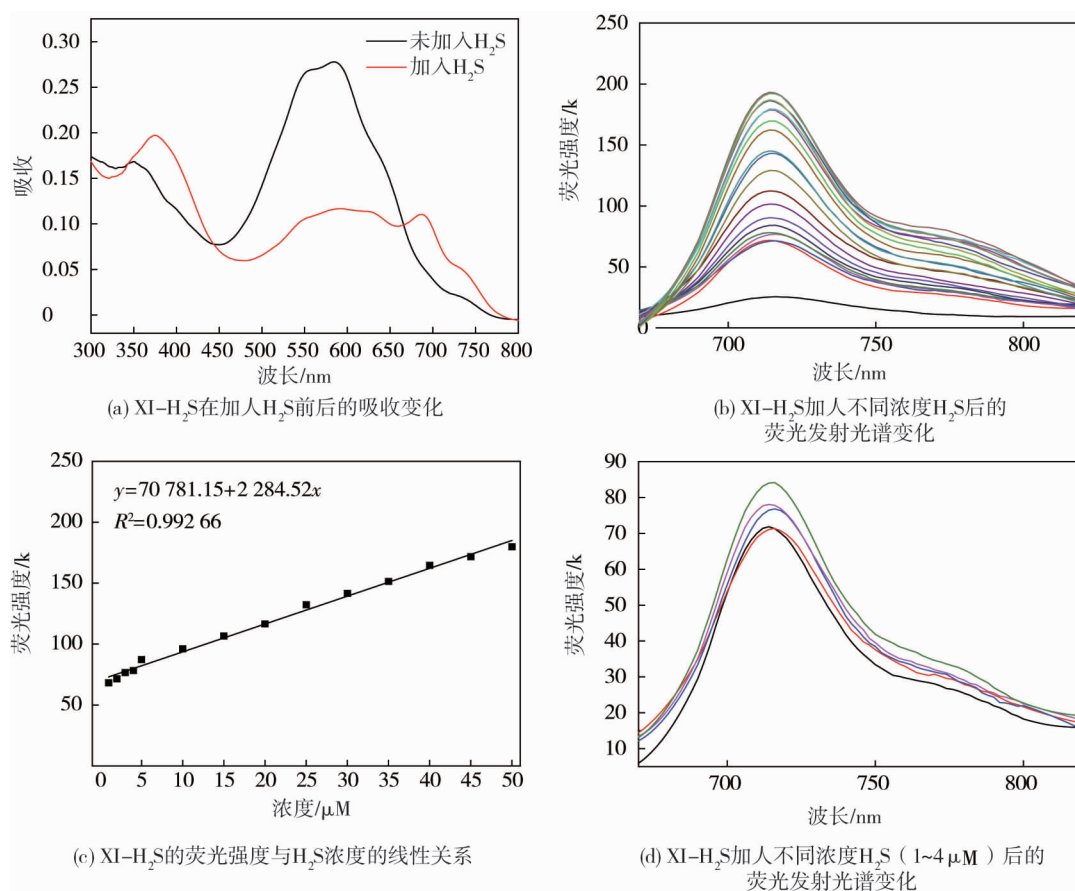


图4 XI- H_2S 的吸收变化、荧光发射光谱变化、荧光强度与 H_2S 浓度的线性关系和加入低浓度 H_2S 后的荧光发射光谱变化

2.2 响应时间及 pH 的影响

我们研究了探针 XI-H₂S 与 H₂S 响应的关系,测试了加入 H₂S(100 μM)后一段时间内的荧光强度,由图 5(a)可知:加入 H₂S 后 1 s 内溶液就产生了荧光,随着时间的延长,其荧光强度逐渐增强,并在 3 min 后趋于稳定.探针 XI-H₂S 表现出对 H₂S 极快的响应速度.还研究了 pH 对于探针 XI-H₂S 对 H₂S 响应的影响,测试了在不同 pH 值的 PBS 缓冲溶液中,探针 XI-H₂S(10 μM)与 H₂S(100 μM)响应后的荧光强度,由图 5(b)可知:在 pH 值小于 3 时,探针基本上不与 H₂S 响应,pH 值在 6~9 的范围内时均有不错的荧光信号产生,说明该探针可以适用于绝大多数环境中 H₂S 的检测.

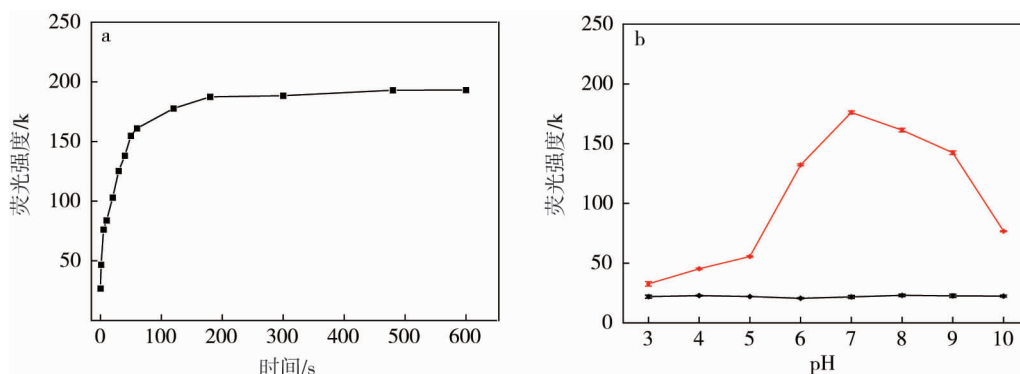


图 5 XI-H₂S 的荧光强度与 H₂S(100 μM)反应的时间关系图(a)和不同 pH 值对 H₂S 检测 H₂S(100 μM)的影响(b)

2.3 选择性和抗干扰性

对探针 XI-H₂S 的选择性进行了研究,选取了可能对探针 XI-H₂S 响应造成影响的干扰物,例如:常见的阴阳离子、生物硫醇等.由图 6(a)可知:只有单独加入了 H₂S 之后,探针 XI-H₂S 才会产生明显的荧光信号,倍数有 10 倍左右,有很好的信噪比,生物硫醇 GSH, Hcy 和 Cys 对探针有微弱的影响,而其他分析物加入后,基本没有响应.说明探针 XI-H₂S 具有优秀的选择性.

接下来对探针 XI-H₂S 的抗干扰性也进行了研究.将一些常见的阴阳离子及具有还原性的生物硫醇等和 H₂S 一起加入探针 XI-H₂S 体系中对其荧光强度进行了测试.如图 6(b)所示,发现其荧光强度的变化幅度不大,说明探针 XI-H₂S 对这些阴阳离子及生物硫醇等具有优秀的抗干扰能力.通过对其选择性和抗干扰性研究可以发现,探针 XI-H₂S 能够在对 XI-H₂S 进行特异性检测.

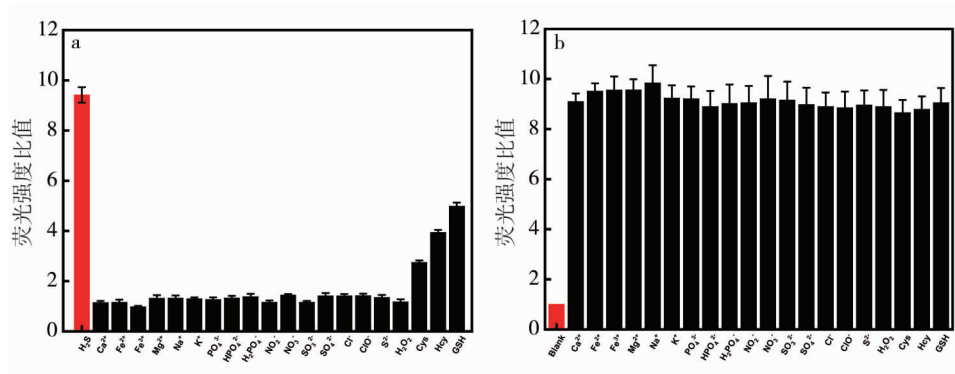


图 6 XI-H₂S 对 H₂S 的选择性(a)和抗干扰性实验荧光比率柱状图(b)

2.4 抗光漂白性

将探针 XI-H₂S 与 H₂S 完全响应后,将其暴露在 365 nm 的紫外灯光下进行照射,每隔 10 min 测试其荧光强度.由图 7 可知:我们可以发现体系的荧光强度经过 365 nm 紫外灯的照射后,基本上没有改变,说明探针 XI-H₂S 具有良好的抗光漂白性.

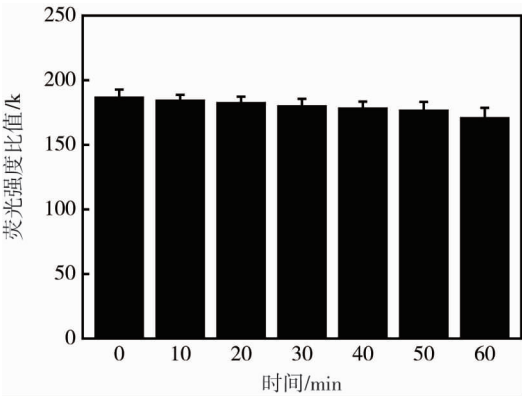


图 7 XI-H₂S 与 H₂S 响应后在 365 nm 的紫外灯照射下荧光强度的变化

2.5 识别机理

如图 8 所示,探针 XI-H₂S 有一个以氧杂蒽为骨架的近红外荧光团 XI-OH,然后在荧光团的羟基上引入 2,4-二硝基苯磺酰基作为 H₂S 的识别位点.由于 2,4-二硝基苯磺酰基有强吸电子效应,会将荧光团的 ICT 过程打断,探针 XI-H₂S 没有荧光,H₂S 可以使磺酰基疏解,荧光团的 ICT 过程恢复,产生明显的近红外荧光信号,实现荧光从无到有的变化.

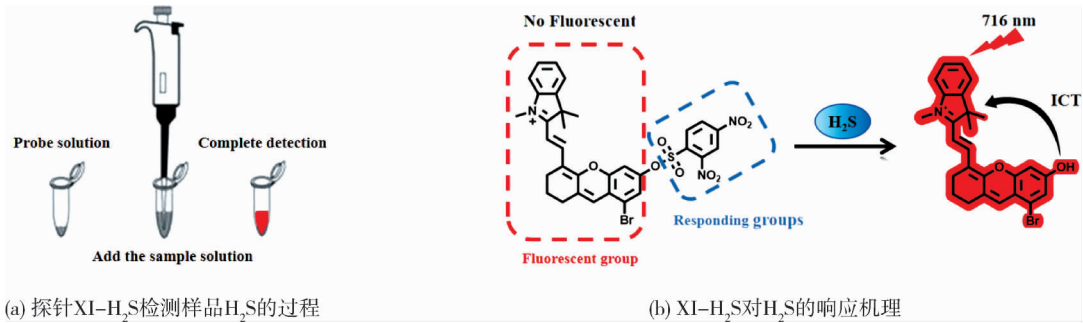


图 8 探针 XI-H₂S 对 H₂S 的识别机理

2.6 探针 XI-H₂S 对环境水中的 H₂S 的检测

为验证探针 XI-H₂S 在日常水环境中检测 H₂S 的能力,对不同环境中的水样进行检测,取了 3 种周边环境中的水样,向水样中加入一定量的 H₂S,再将 XI-H₂S 的 DMSO 溶液加入其中,然后测试溶液的荧光强度,通过之前的线性拟合方程计算其对应的浓度,再将计算的浓度与实际加入的浓度进行比较得出回收率,由表 1 可以看到:检出量与加入量基本上比较贴合,说明探针 XI-H₂S 可以测定环境水样中的 H₂S 含量,这也表明探针 XI-H₂S 能够应用于复杂的环境中检测 H₂S.

表 1 环境水样中 H₂S 的检测

样品	H ₂ S 加入量/ μ M	H ₂ S 检出量/ μ M	回收率/%
月湖水	5.00	5.42 $\pm$ 0.47	108.04
化学楼旁荷花池水	5.00	5.10 $\pm$ 0.33	101.00
自来水	5.00	5.00 $\pm$ 0.07	100.00

3 结论

1) 探针 XI-H₂S 是由以氧杂蒽为骨架的近红外荧光团 XI-OH 和对 H₂S 响应的响应基团 2,4-二硝基苯磺酰基组成.由于 2,4-二硝基苯磺酰基有强吸电子效应,会将荧光团的 ICT 过程打断,探针 XI-H₂S 没有荧光,H₂S 可以使磺酰基疏解,荧光团的 ICT 过程恢复,产生明显的近红外荧光信号,实现对 H₂S 的检测.

2) 研究了探针的各项性能,并优化了测试条件.结果表明:荧光探针 XI-H₂S 具有发射波长长(716 nm)、

检测限低(651 nM)、响应速度快、选择性好、抗干扰性强、抗光漂白性好等优点。

3) 探针 XI-H₂S 被应用于不同水样中 H₂S 的检测, 这为开发检测 H₂S 的方法提供了一些帮助。

参考文献:

- [1] EVANS C L. The toxicity of hydrogen sulphide and other sulphides[J]. Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences, 1967, 52(3): 231-248.
- [2] BASUDHAR D, RIDNOUR L A, CHENG R, et al. Biological signaling by small inorganic molecules[J]. Coordination Chemistry Reviews, 2016, 306: 708-723.
- [3] COAVOY-SÁNCHEZ S A, COSTA S K P, MUSCARÁ M N. Hydrogen sulfide and dermatological diseases[J]. British Journal of Pharmacology, 2020, 177(4): 857-865.
- [4] PEI S Z, LI J L, ZHANG C H, et al. Development of a piperazinyl-NBD-based fluorescent probe and its dual-channel detection for hydrogen sulfide[J]. Analyst, 2021, 146(7): 2138-2143.
- [5] FANG T, JIANG X D, SUN C L, et al. BODIPY-based naked-eye fluorescent on-off probe with high selectivity for H₂S based on thiolysis of dinitrophenyl ether[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 290: 551-557.
- [6] SIEGEL L M. A direct microdetermination for sulfide[J]. Analytical Biochemistry, 1965, 11(1): 126-132.
- [7] SEARCY D G, PETERSON M A. Hydrogen sulfide consumption measured at low steady state concentrations using a sulfidostat[J]. Analytical Biochemistry, 2004, 324(2): 269-275.
- [8] DJOKIC M R, RISTIC N D, OLAHOVA N, et al. Quantitative on-line analysis of sulfur compounds in complex hydrocarbon matrices[J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1509: 102-113.
- [9] LIU H W, CHEN L L, XU C Y, et al. Recent progresses in small-molecule enzymatic fluorescent probes for cancer imaging[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(18): 7140-7180.
- [10] SUSEELA Y V, NARAYANASWAMY N, PRATHIAR S, et al. Far-red fluorescent probes for canonical and non-canonical nucleic acid structures: current progress and future implications[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(3): 1098-1131.
- [11] LYU H M, YANG X F, ZHONG Y G, et al. Native chemical ligation combined with spirocyclization of benzopyrylium dyes for the ratiometric and selective fluorescence detection of cysteine and homocysteine[J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(3): 1800-1807.
- [12] ZHENG K B, LIN W Y, HUANG W M, et al. Facile synthesis of a class of aminochromene - aniliniumion conjugated far-red to near-infrared fluorescent dyes for bioimaging[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2015, 3(5): 871-877.
- [13] ALVES C M A, NAIK S, COUTINHO P J G, et al. Novel long alkyl side chain benzo [a] phenoxazinium chlorides: synthesis, photophysical behaviour and DNA interaction[J]. Tetrahedron, 2009, 65(50): 10441-10452.
- [14] GONG D Y, ZHU X T, TIAN Y J, et al. A phenylselenium-substituted BODIPY fluorescent turn-off probe for fluorescence imaging of hydrogen sulfide in living cells[J]. Analytical Chemistry, 2017, 89(3): 1801-1807.
- [15] CHEN X Q, PRADHAN T, WANG F, et al. Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives[J]. Chemical Reviews, 2012, 112(3): 1910-1956.
- [16] WANG K, ZHANG F, WEI Y Q, et al. *In situ* imaging of cellular reactive oxygen species and caspase-3 activity using a multifunctional theranostic probe for cancer diagnosis and therapy[J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(22): 7870-7878.
- [17] OJIDA A, TAKASHIMA I, KOHIRA T, et al. Turn-on fluorescence sensing of nucleoside polyphosphates using a xanthene-based Zn(II) complex chemosensor[J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, 130(36): 12095-12101.
- [18] WU Y Q, SHI A P, ZENG H, et al. Development of near-infrared xanthene fluorescence probe for the highly selective and sensitive detection of cysteine[J]. Dyes and Pigments, 2019, 170: 107563.
- [19] WEN J, LYU Y H, XIA P Y, et al. A water-soluble near-infrared fluorescent probe for specific Pd²⁺ detection[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2018, 26(4): 931-937.
- [20] LIU J, SUN Y Q, WANG P, et al. Construction of NIR and ratiometric fluorescent probe for Hg²⁺ based on a rhodamine-inspired dye platform[J]. Analyst, 2013, 138(9): 2654-2660.
- [21] WU C Y, XIE R H, PANG X, et al. A colorimetric and near-infrared ratiometric fluorescent probe for hydrazine detection and bioimaging[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020, 243: 118764.
- [22] 黄靖. 以氧杂萜为电子供体的探针的制备及其在光声/荧光成像中的应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.