

香豆素-半花菁-苯硼酸对唾液酸的识别与光学传感

张淑英, 郭林娥, 黎朝, 江云宝*

(厦门大学化学化工学院, 谱学分析与仪器教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 以共轭连接的香豆素和半花菁为信号报告基团, 以苯硼酸为识别基团, 设计合成了一种对唾液酸具有选择性识别的比色型荧光传感分子, 命名为 CHB, 并采用吸收和荧光光谱方法研究其对唾液酸(N-乙酰神经氨酸)及其他糖类分子(如葡萄糖、蔗糖和麦芽三糖等)的响应。结果表明, CHB 仅对 N-乙酰神经氨酸表现出显著的吸收和荧光光谱响应, 并通过高分辨质谱研究证实二者以 1:1 计量比通过共价作用结合形成复合物。N-乙酰神经氨酸与苯硼酸的共价作用和静电作用共同影响了香豆素-半花菁共轭体系的分子内电荷转移, 从而引起显著的溶液颜色变化和高选择性的光谱响应, 因此 CHB 可用于 N-乙酰神经氨酸的可视化检测。

关键词: 香豆素-半花菁; N-乙酰神经氨酸; 分子内电荷转移; 可视化

中图分类号: O 657.39

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2019)01-0019-08

唾液酸是一类重要的九碳单糖衍生物的统称^[1], 至今在脊椎动物体内已发现超过 50 种唾液酸衍生物。其中唾液酸在大部分动物体内主要以 N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac)和 N-羟乙酰神经氨酸两种形式存在, 而在人体组织中则主要以 Neu5Ac 形式存在(图 1)^[2-4], 因此唾液酸通常指 Neu5Ac。唾液酸位于细胞表面聚糖(如糖脂和糖蛋白)的非还原糖链末端^[5], 有利于改变细胞表面聚糖的结构, 从而调节包括发育和分化在内的不同类型的生理和病理过程^[6-10]。唾液酸的表达水平与诸多疾病相关, 例如其在细胞表面的过度表达可导致多种癌症的恶化和转移^[11-13]。此外, 细胞中存在多种与唾液酸结构类似的糖类物质, 对其检测存在诸多干扰, 因此探究高选择性、便捷、有效的唾液酸检测方法具有重大意义。

目前报道检测唾液酸的方法主要分为两种类型^[14-17]: 第一种类型是基于分离唾液酸和糖复合物的检测方法, 例如高效液相色谱法^[18]和毛细管电泳法^[19], 由于分离唾液酸的过程复杂, 检测操作繁琐耗时, 仪器价格昂贵等, 致使该类型检测方法的应用受到限制; 第二种类型是无需分离出唾液酸的检测方法, 主要为光谱分析法^[20], 与第一种类型的检测方

法相比, 该法可直接检测唾液酸, 表现出直观的光谱响应, 且具有操作简便、设备便宜、采样方式灵活等优势, 而且在检测人体内唾液酸方面已有所应用。

光谱分析法常见的有荧光光谱法和紫外-可见吸收光谱法, 其关键在于传感分子的设计。传感分子一般由信号报告基团、连接臂、识别基团三部分组成, 也有传感分子只包含信号报告基团和识别基团两部分。由于香豆素-半花菁共轭体系具有良好的光学特性, 如光稳定性高和斯托克斯位移大等, 共轭体系的荧光发射波长位于近红外区(650~900 nm)^[21], 并且其最大的特点是能产生可视的颜色变化; 而 Neu5Ac 的顺式-1, 2-或 1, 3-二羟基可与苯硼酸基团通过共价作用形成硼酸酯^[3], 所以本研究以香豆素-半花菁共轭体系为信号报告基团, 以苯硼酸基为识别基团, 设计了基于分子内电荷转移(ICT)机理的比色型荧光传感分子, 命名为 CHB(图 1), 并通过质谱、吸收光谱和荧光光谱等手段研究其对 Neu5Ac 的识别传感, 期望实现对 Neu5Ac 便捷的可视化监测目的。

收稿日期: 2018-05-17 录用日期: 2018-07-25

基金项目: 国家自然科学基金(21435003, 91427304, 21521004, J1310024)

*通信作者: ybjian@xmu.edu.cn

引文格式: 张淑英, 郭林娥, 黎朝, 等. 香豆素-半花菁-苯硼酸对唾液酸的识别与光学传感[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2019, 58(1): 19-26.

Citation: ZHANG S Y, GUO L E, LI Z, et al. Recognition and optical sensing of sialic acid via coumarin-hemicyanine-phenylboronic acid[J]. J Xiamen Univ Nat Sci, 2019, 58(1): 19-26. (in Chinese)



<http://jxmu.xmu.edu.cn>

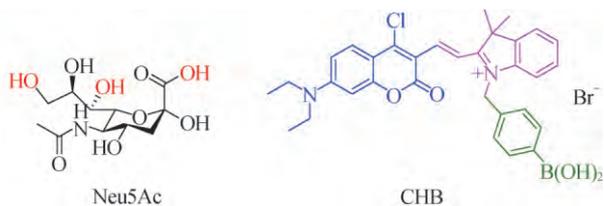


图1 Neu5Ac 和 CHB 的分子结构

Fig.1 Chemical structures of Neu5Ac and CHB

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

合成所用有机溶剂均为上海国药集团化学试剂有限公司的分析纯试剂;表征所用氘代二甲基亚砜(DMSO- d_6)和甲醇均为 Sigma-Aldrich 公司试剂;光谱测试所用乙醇经分子筛干燥后重新蒸馏纯化,甲醇为 Sigma-Aldrich 公司高效液相色谱试剂,实验用水为纯净水。

Bruker AV 500 MHz 和 Bruker AV 600 MHz 核磁共振谱(NMR)仪(以四甲基硅烷为内标);Bruker En Apex ultra7.0 FT-MS 高分辨质谱(HRMS)仪;Thermo Evolution 300 紫外-可见吸收光谱仪;HORIBA Fluorolog 荧光光谱仪。

1.2 CHB 的合成与鉴定

CHB 的合成路线如图 2 所示。

1.2.1 化合物 A 的合成

称取 0.33 g (2.0 mmol) 3-(二乙胺基)苯酚和

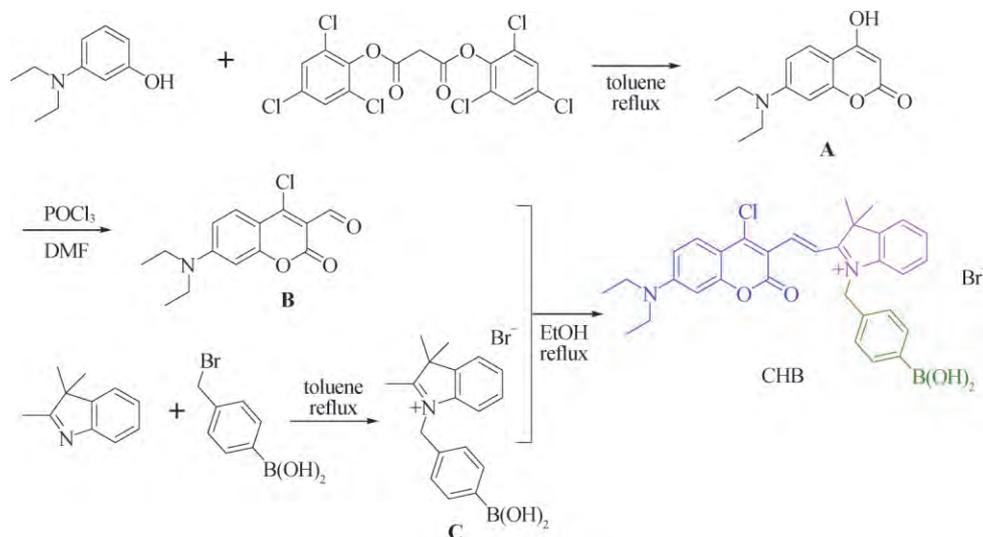


图2 CHB 的合成路线

Fig.2 Synthetic route of CHB

0.93 g (2.0 mmol) 双(2,4,6-三氯苯基)丙二酸酯溶于 15 mL 无水甲苯中,加热回流反应 2 h.反应结束后将反应液冷却至室温,析出棕灰色沉淀,抽滤除去甲苯溶剂后,所得棕灰色固体依次用甲苯和石油醚多次洗涤,直至得到浅灰色固体 A^[22],产量 0.36 g,产率 77.3%。

1.2.2 化合物 B 的合成

冰浴条件下,恒压滴加 3 mL 三氯氧磷至 3 mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶剂中,于 50 °C 下反应 0.5 h.称取 0.35 g (1.5 mmol) A 溶于 10 mL DMF 中,并滴加入上述反应液中.升温至 60 °C,搅拌反应 12 h.待反应完毕,将反应液冷却至室温后缓慢倒入冰水中,得到橙红色沉淀.过滤,所得橙色固体用二氯甲烷萃取,用饱和食盐水洗涤 2 次,再用无水硫酸钠干燥.旋转蒸发除去溶剂,得到橙色固体产物 B^[23],产量 0.38 g,产率 90.6%。

1.2.3 化合物 C 的合成

称取 1.43 g (10.0 mmol) 2,3,3-三甲基-3H-吲哚与 0.64 g (3.0 mmol) 4-溴甲基苯硼酸于 30 mL 乙腈中,加热回流反应 12 h.旋转蒸发除去溶剂,粗产物采用硅胶柱层析法提纯,洗脱剂为二氯甲烷-甲醇(体积比 60 : 1),得到棕黄色固体产物 C,产量 0.75 g,产率 85.0%。

1.2.4 CHB 的合成

称取 0.28 g (1.0 mmol) B 和 0.37 g (1.0 mmol) C 溶于 20 mL 无水乙醇中,搅拌回流反应 12 h.旋转蒸发除去乙醇得到紫红色固体,采用硅胶柱层析法纯化产物,洗脱剂为石油醚-乙酸乙酯(体积比 6 : 1),得到深蓝色固体产物,产量 0.39 g,产率 61.3%。产物经

$^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 HRMS(电喷雾(ESI))表征,鉴定为目标产物 CHB。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8.42 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.94~7.89 (m, 1H), 7.83 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.63~7.58 (m, 1H), 7.38 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.02 (dd, $J = 9.5, 2.3$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.31 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 3.60 (dd, $J = 13.9, 6.8$ Hz, 2H), 3.46~3.36 (m, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 1.18 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.12 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (214 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 167.40, 141.17, 140.73, 139.28, 136.69, 135.39, 135.13, 134.91, 132.20, 132.19, 132.18, 131.98, 131.93, 129.13, 129.10, 128.96, 127.24, 126.39, 126.29, 125.27, 123.58, 122.93, 115.01, 111.65, 67.86, 67.09, 29.17, 28.84, 19.32, 18.64, 13.84, 12.83。 HRMS (ESI): $[\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{BClN}_2\text{O}_4 + \text{MeOH-H}_2\text{O}]^+$ $m/z = 569.2373$ (计算值), 569.2380 (测定值)。

1.3 实验方法

1.3.1 溶液配制

称取 1.337 g 氯化铵固体溶于 500 mL 纯净水,用 pH 10.0 的氢氧化钠调节溶液的 pH,制得 0.05 mol/L pH 8.0 的氯化铵-氨水缓冲液。实验前将乙醇与该缓冲液按照实验所需体积比混合即为光谱测试溶剂。

称取 0.025 g 传感分子 CHB,置于 10 mL 容量瓶中,用色谱纯甲醇溶解并定容,配制成 4.0 mmol/L 的 CHB 储备液。

分别称取 1.0 mmol Neu5Ac 及其他糖类干扰物(葡萄糖、果糖、木糖、甘露糖、半乳糖、海藻糖、蔗糖、乳糖、龙胆二糖、纤维二糖和麦芽三糖),溶于 10 mL 纯净水,配制成 0.1 mol/L 的母液。

1.3.2 光谱测试方法

移取 10 μL CHB 储备液于装有 2 mL 光谱测试溶剂的石英槽中,加入 2~20 μL Neu5Ac 母液,对其进行吸收光谱和荧光光谱测试,其中荧光光谱的激发波长为 597 nm,激发和发射的狭缝宽度均为 3 nm。

向装有 2 mL 光谱测试溶剂的石英槽加入 10 μL CHB 储备液,再加入 20 μL 其他糖类干扰物的母液,最后加入 20 μL Neu5Ac 的母液,制得选择性竞争实验溶液,并进行吸收光谱和荧光光谱测试。

1.3.3 MS 实验方法

往光谱测试溶剂中,加入 $n(\text{CHB}) : n(\text{Neu5Ac}) = 1 : 1$ 混合物,使用 HRMS 仪检测混合物的 MS 谱图。

2 结果与讨论

2.1 CHB 与 Neu5Ac 的作用机理

ICT 与分子结构中电子给体和受体的得失电子能力有关。如图 3 所示,分子 CHB 中存在电子给体和受体,其中氯原子作为拉电子基团,氮原子则具有给电子能力,但由于分子 CHB 上的半花菁端氮原子带正电荷,电荷密度减小,削弱了其给电子能力,致使 ICT 受限,溶液呈现浅黄色。当 Neu5Ac 的顺式-1,2-或 1,3-二羟基与苯硼酸基团通过可逆共价相互作用结合形成带负电荷的硼酸酯,并且 Neu5Ac 脱质子带负电荷,与 CHB 的氮正电荷之间存在静电作用,极大地增加了半花菁端氮原子的电荷密度,提高了其给电子能力,促进了 ICT,从而产生由浅黄色到蓝色的肉眼可见的溶液颜色变化。通过 HRMS(ESI)测得二者复合物的 $m/z = 828.3094$,与 $[\text{C}_{43}\text{H}_{48}\text{BClN}_3\text{O}_{11}]^+$ 理论值 828.3065 相符,可知 Neu5Ac 与 CHB 的苯硼酸基团按 1:1 计量比结合形成复合物。

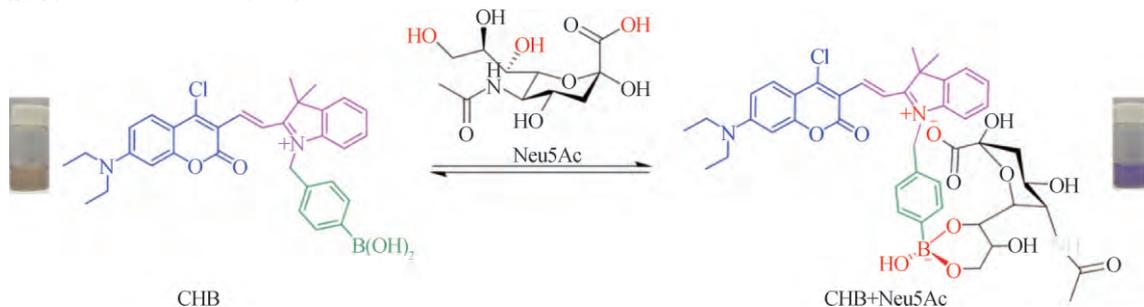


图 3 CHB 与 Neu5Ac 作用的化学结构示意图

Fig.3 Chemical structural diagram of the interaction of CHB with Neu5Ac

2.2 乙醇-缓冲液中 CHB 对 Neu5Ac 的识别传感

苯硼酸的 pK_a 为 8.6^[24], 与 Neu5Ac 的顺式-1,2-或 1,3-二羟基在 $pH > 8$ 介质中结合为宜, 与 Neu5Ac 的 α -羟基酸在 pH 为 2~8 范围内结合为宜^[3]. 通过 pH 条件优化在弱碱性条件下苯硼酸与二醇的作用效果较佳, 故本文中 choice $pH 8.0$ 作为 CHB 与 Neu5Ac 作用的优化 pH 条件. 在该条件下, 探讨了混合溶剂中乙醇的体积分数对 CHB 与 Neu5Ac 作用的吸收与荧光光谱的影响. 由图 4(a) 和 (b) 可知, 在纯水介质中 CHB 与 Neu5Ac 作用的光谱变化最小, 随着乙醇体积分数增加, 其光谱响应越来越显著, 但是当乙醇的体积分数达 100% 时, 光谱变化反而减小. 并且发现当乙醇的体积分数为 70% 时, CHB 与 Neu5Ac 作用后的吸收和荧光光谱响应最佳.

图 4(c) 所示为以不同体积分数的乙醇与氯化铵-氨水缓冲液为混合溶剂的 CHB 溶液在加入 Neu5Ac 前后的颜色变化. 发现在纯氯化铵-氨水缓冲液中 CHB 显浅蓝色, 在纯乙醇溶液中呈浅黄色; 改变乙醇的体积分数时, CHB 自身的颜色也随之改变. 加入 Neu5Ac 后溶液均变为蓝色或深蓝色, 呈现显著的颜色变化, 尤其在乙醇体积分数为 70% 的混合溶剂中,

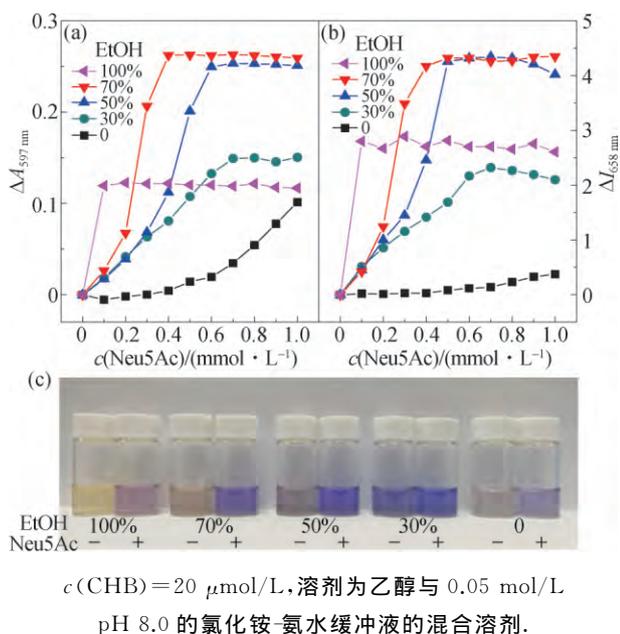


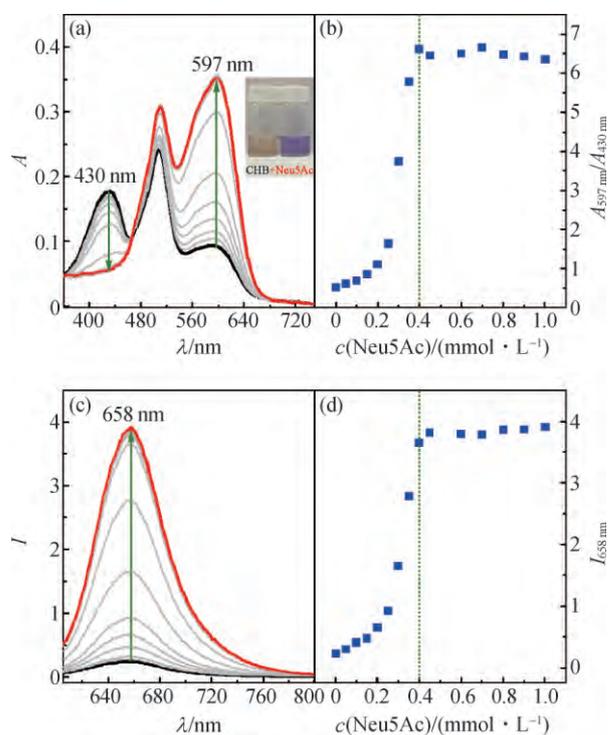
图 4 CHB 的吸光度(a)和荧光强度(b)随 Neu5Ac 浓度的变化关系曲线, 以及加入 Neu5Ac 前后的 CHB 溶液颜色变化(c)

Fig.4 Plots of the absorbance (a) and fluorescence intensity (b) of CHB versus concentrations of Neu5Ac, and color changes (c) of CHB in the absence and presence of Neu5Ac

CHB 自身及其与 Neu5Ac 作用后的颜色变化最为显著. 因此, CHB 与 Neu5Ac 作用的优化溶剂条件是乙醇与 0.05 mol/L $pH 8.0$ 的氯化铵-氨水缓冲液按体积比 7 : 3 混合.

2.3 CHB 与 Neu5Ac 作用的光谱分析

在优化的溶剂条件下, 考察了不同浓度 Neu5Ac 存在下 CHB 的吸收光谱和荧光光谱(图 5). 由于香豆素和半花菁之间的 ICT 效应, CHB 除了表现出 2 个生色团, 即香豆素(430 nm)和半花菁(508 nm)各自的吸收峰外, 在长波长处还具有典型的 ICT 紫外吸收峰(597 nm)和荧光发射峰(658 nm). 随 Neu5Ac 浓度增加, 香豆素-半花菁共轭体系在 597 nm 处 ICT 吸收信号逐渐增强, 430 nm 处香豆素吸收峰信号逐渐减弱, 465 nm 处出现等吸收点, 溶液颜色由浅黄色转变为蓝色(图 5(a)), 说明 Neu5Ac 与 CHB 作用后形成了稳定的复合物, 且增强了香豆素-半花菁共轭体系的



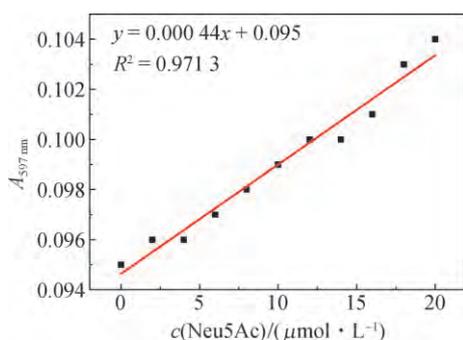
$c(CHB) = 20 \mu mol/L, c(Neu5Ac) = 0 \sim 1.0 mmol/L$, 溶剂为乙醇与 0.05 mol/L $pH 8.0$ 的氯化铵-氨水缓冲液按体积比 7 : 3 混合, 激发波长为 597 nm. Neu5Ac 浓度随箭头方向依次增大.

图 5 CHB 随 Neu5Ac 浓度变化的吸收光谱(a)、吸光度比值关系曲线(b)、荧光光谱(c)和荧光强度关系曲线(d)

Fig.5 Absorption spectra (a), plot of absorbance ratio (b), fluorescence spectra (c) and plot of fluorescence intensity (d) of CHB versus concentration of Neu5Ac

ICT.此外,由于 CHB 上的苯硼酸基团与 Neu5Ac 的羟基通过共价键结合是一个动态可逆的过程,与金属离子配位作用、化学断键反应等相比灵敏度欠佳,并且受溶剂、pH 等因素的影响,所以需要较高浓度的 Neu5Ac(0.4 mmol/L)使反应达到平衡(图 5(b)).另外,CHB 与 Neu5Ac 结合后,香豆素-半花菁共轭体系 658 nm 处 ICT 荧光发射峰逐渐增强(图 5(c)),直至加入 0.4 mmol/L Neu5Ac 时反应达到平衡(图 5(d)).吸收光谱和荧光光谱实验结果进一步证实了传感分子 CHB 可与带负电荷的 Neu5Ac 通过共价作用和静电作用结合形成稳定的复合物,有效提高了分子内的电荷密度,促进了共轭体系的电荷转移过程,因而在长波长处的吸收峰和荧光发射峰均显著增强.

此外,为了探讨 CHB 对 Neu5Ac 的定量检测情况,考察了 CHB 与 Neu5Ac 作用的线性关系曲线,如图 6 所示,其线性方程为 $A = 0.000\ 44 \times c(\text{Neu5Ac}) + 0.095$.由此计算得 CHB 的检测限为 $18.8\ \mu\text{mol/L}$ ($3\sigma/k$, $n = 11$),远低于人体中 Neu5Ac 的正常浓度 ($1.5 \sim 2.5\ \text{mmol/L}$)^[25],表明 CHB 有望用于人体中 Neu5Ac 的检测,为定量检测 Neu5Ac 提供了一种新的设计思路.



$c(\text{CHB}) = 20\ \mu\text{mol/L}$, $c(\text{Neu5Ac}) = 0 \sim 20\ \mu\text{mol/L}$,
溶剂为乙醇与 0.05 mol/L pH 8.0 的
氯化铵-氨水缓冲液按体积比 7 : 3 混合.

图 6 CHB 随 Neu5Ac 浓度的线性相关曲线
Fig.6 Plot of linear dependence of CHB
versus concentration of Neu5Ac

2.4 选择性和竞争实验

Neu5Ac 为九碳单糖衍生物,其顺式-1,2-或 1,3-二羟基可与 CHB 的苯硼酸基团共价可逆结合形成硼酸酯.由于其他糖类也具有顺式-1,2-或 1,3-二羟基,因此进一步开展了选择性和竞争实验.

考察了相同浓度和介质条件下 CHB 分别与 Neu5Ac 或其他糖类分子作用时的吸收光谱、荧光光

谱和溶液颜色变化(图 7).结果发现除 Neu5Ac 能够引起显著的光谱变化外,其他糖类分子与 CHB 作用均未能产生明显光谱响应(图 7(a)和(b)),且仅 Neu5Ac 存在时溶液颜色由浅黄色变为蓝色,其他糖类分子的加入均未能引起溶液颜色变化(图 7(c)).这可能是由于在该条件下,一方面其他糖类分子的顺式-1,2-或 1,3-二羟基与 CHB 的苯硼酸基团结合能力较 Neu5Ac 弱,另一方面其他糖类分子不含负电荷,与 CHB 之间不存在静电作用,所以较之 Neu5Ac,其他糖类分子无法调控 CHB 分子内电子给体和供体的得失电子能力及影响 ICT 过程,从而表现出 CHB 仅对 Neu5Ac 的高选择性光谱响应和肉眼可见的颜色变化.

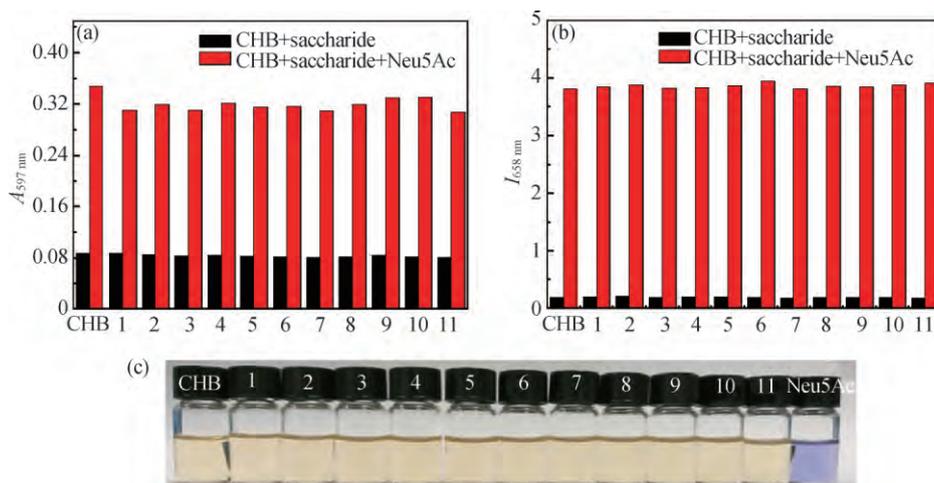
为进一步考察其他糖类分子对 Neu5Ac 与 CHB 的竞争结合,向上述溶液中各加入 1.0 mmol/L Neu5Ac,记录其吸收及荧光光谱(图 7(a)和(b)).由图可见,含糖溶液中加入 Neu5Ac 后,吸收和荧光信号均发生显著变化,且与客体分子仅 Neu5Ac 存在时的变化一致,说明其他糖类分子的加入对 CHB 与 Neu5Ac 作用的干扰较弱.这种现象归因于 CHB 与 Neu5Ac 之间的共价作用和静电作用相互配合,使得其结合能力远强于其他糖类分子,致使其他糖类分子与 Neu5Ac 竞争 CHB 的能力极弱.

葡萄糖是人体内的重要糖类分子,正常浓度为 $4.0 \sim 7.0\ \text{mmol/L}$ ^[26],Neu5Ac 在人体内位于糖蛋白的糖链末端,正常浓度为 $1.5 \sim 2.5\ \text{mmol/L}$ ^[25].由此考虑人体内的葡萄糖最有可能干扰传感分子对 Neu5Ac 的检测.为此,特别考察了不同浓度的葡萄糖对 CHB 与低浓度 Neu5Ac 作用的干扰情况.由图 8 可知,高浓度的葡萄糖也未使 CHB 产生明显的光谱响应,而且对 CHB 与 Neu5Ac 作用的干扰较小,说明人体内正常浓度的葡萄糖不会影响本方法对 Neu5Ac 的检测.综上实验结果表明,CHB 对 Neu5Ac 有高选择性且二者的作用不受其他糖类分子的干扰,在不分离 Neu5Ac 和糖复合物的条件下,也能够实现对 Neu5Ac 的便捷检测.

3 结 论

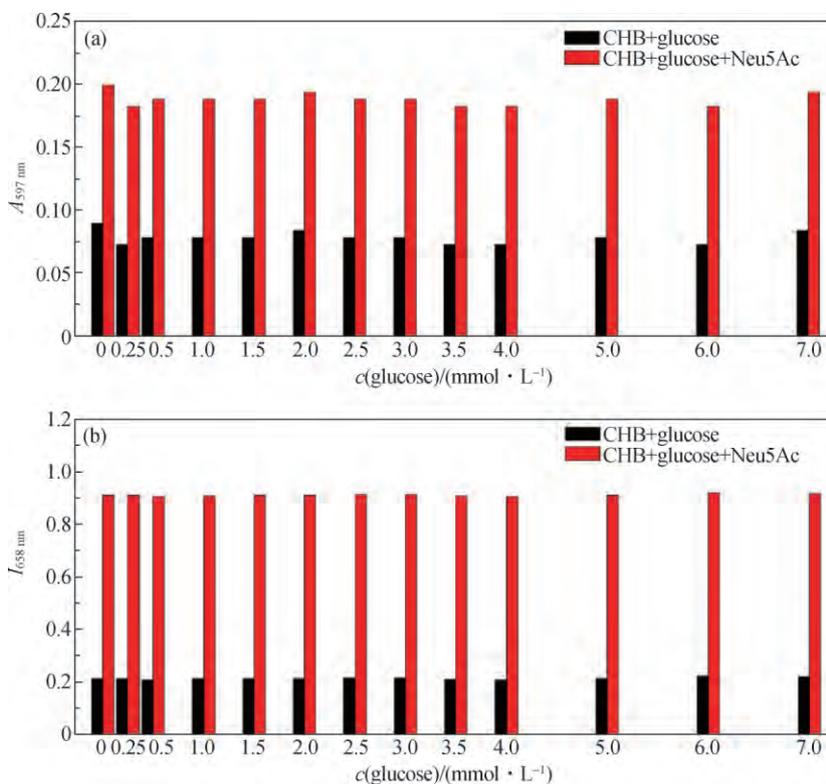
以共轭的香豆素和半花菁为荧光基团,苯硼酸基团作为识别位点,设计合成了基于 ICT 机理的比色型荧光传感分子 CHB. HRMS 结果证明 CHB 与 Neu5Ac 按 1 : 1 计量比通过共价作用形成复合物,加之二者间的静电作用共同影响了分子内的电荷密度,有利于香豆素-半花菁共轭体系的 ICT,使共轭体系的

<http://jxmu.xmu.edu.cn>



1.葡萄糖;2.果糖;3.木糖;4.甘露糖;5.半乳糖;6.海藻糖;7.蔗糖;8.乳糖;9.龙胆二糖;10.纤维二糖;11.麦芽三糖.
 $c(\text{CHB})=20\ \mu\text{mol/L}$, $c(\text{Neu5Ac})=1.0\ \text{mmol/L}$, 溶剂为乙醇与 $0.05\ \text{mol/L}$ pH 8.0 的氯化铵-氨水缓冲液按体积比 7 : 3 混合.

图 7 CHB 与其他糖类分子作用及加入 Neu5Ac 前后的吸光度(a)、荧光强度(b)和溶液颜色变化(c)
 Fig.7 The absorbance (a) and fluorescence intensity (b) and color changes (c) of CHB in the presence of other saccharides with or without Neu5Ac



$c(\text{CHB})=20\ \mu\text{mol/L}$, $c(\text{Neu5Ac})=0.25\ \text{mmol/L}$, $c(\text{glucose})=0\sim 7.0\ \text{mmol/L}$,
 溶剂为乙醇与 $0.05\ \text{mol/L}$ pH 8.0 的氯化铵-氨水缓冲液按体积比 7 : 3 混合.

图 8 CHB 与不同浓度葡萄糖作用及加入 Neu5Ac 前后的吸光度(a)和荧光强度(b)
 Fig.8 The absorbance (a) and fluorescence intensity (b) of CHB versus different concentrations of glucose with or without Neu5Ac

吸收及荧光强度显著增强,溶液由浅黄色变为蓝色,实现了对 Neu5Ac 的可视化检测。CHB 对 Neu5Ac 的检测限为 18.8 $\mu\text{mol/L}$,远低于人体内 Neu5Ac 的正常浓度,且选择性和竞争实验均表明 CHB 对 Neu5Ac 的作用具有高选择性和强抗干扰能力,因此 CHB 在检测人体内 Neu5Ac 方面具有优势。本研究结果为设计唾液酸的高选择性的新型荧光传感分子提供了新的思路。

参考文献:

- [1] HAN S F, COLLINS B E, PAULSON J C. Synthesis of 9-substituted sialic acids as probes for CD22-ligand interactions on B cells [M] // *Frontiers in modern carbohydrate chemistry*, Washington DC: American Chemistry Society, 2007: 2-14.
- [2] 张嘉宁, 汪淑晶. 唾液酸生物学与人类健康和疾病[J]. *生命科学*, 2011, 23(7): 678-684.
- [3] DJANASHVILI K, FRULLANO L, PETERS J A. Molecular recognition of sialic acid end groups by phenylboronates [J]. *Chemistry*, 2005, 11(13): 4010-4018.
- [4] TANGVORANUNTAKUL P, GAGNEUX P, DIAZ S, et al. Human uptake and incorporation of an immunogenic nonhuman dietary sialic acid [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(21): 12045-12050.
- [5] MORLEY T J, WITHERS S G. Chemoenzymatic synthesis and enzymatic analysis of 8-modified cytidine monophosphate-sialic acid and sialyl lactose derivatives [J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(27): 9430-9437.
- [6] VARKI A. Sialic acids in human health and disease [J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(8): 351-360.
- [7] MATSUMOTO A, SATO N, KATAOKA K, et al. Noninvasive sialic acid detection at cell membrane by using phenylboronic acid modified self-assembled monolayer gold electrode [J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(34): 12022-12023.
- [8] FUKUDA M. Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(10): 2237-2244.
- [9] BERTOZZI C R, KIESSLING L L. Chemical glycobiology [J]. *Science*, 2001, 291(5512): 2357-2364.
- [10] RAMAN R, RAGURAM S, VENKATARAMAN G, et al. Glycomics: an integrated systems approach to structure-function relationships of glycans [J]. *Nat Methods*, 2005, 2(11): 817-824.
- [11] RAZ A, MCLELLAN W L, HART I R, et al. Cell surface properties of B16 melanoma variants with differing metastatic potential [J]. *Cancer Res*, 1980, 40(5): 1645-1651.
- [12] DOBROSSY L, PAVELIC Z P, BENACKI R J. A correlation between cell surface sialyltransferase, sialic acid, and glycosidase activities and the implantability of B16 murine melanoma [J]. *Cancer Res*, 1981, 41(6): 2262-2266.
- [13] PASSANITI A, HART G W. Cell surface sialylation and tumor metastasis. Metastatic potential of B16 melanoma variants correlates with their relative numbers of specific penultimate oligosaccharide structures [J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(16): 7591-7603.
- [14] SCHAUER R. Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids [J]. *Adv Carbohydr Chem Biochem*, 1982, 40(40): 131-234.
- [15] LACOMBA R, SALCEDO J, ALEGRÍA A, et al. Determination of sialic acid and gangliosides in biological samples and dairy products: a review [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51(2): 346-357.
- [16] ROHRER J S. Analyzing sialic acids using high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection [J]. *Anal Biochem*, 2000, 283(1): 3-9.
- [17] SCHAUER R. Analysis of sialic acids [J]. *Methods Enzymol*, 1987, 138: 132-161.
- [18] SPICHTIG V, MICHAUD J, AUSTIN S. Determination of sialic acids in milks and milk-based products [J]. *Anal Biochem*, 2010, 405(1): 28-40.
- [19] KAKEHI K, SUSAMI A, TAGA A, et al. High-performance capillary electrophoresis of O-glycosidically linked sialic acid-containing oligosaccharides in glycoproteins as their alditol derivatives with low-wavelength UV monitoring [J]. *J Chromatogr A*, 1994, 680(1): 209-215.
- [20] LIU H W, LAW WENDELL H T, LEE LAWRENCE C C, et al. Cyclometalated iridium (III) bipyridine-phenylboronic acid complexes as bioimaging reagents and luminescent probes for sialic acids [J]. *Chem Asian J*, 2017, 12(13): 1545-1556.
- [21] YUAN L, LIN W, SONG J. Ratiometric fluorescent detection of intracellular hydroxyl radicals based on a hybrid coumarin-cyanine platform [J]. *Chem Commun*, 2010, 46(42): 7930-7932.
- [22] ELSINGHORST P W, HÄRTIG W, GOLDHAMMER S, et al. A gorge-spanning, high-affinity cholinesterase inhibitor to explore β -amyloid plaques [J]. *Org Biomol Chem*, 2009, 7(19): 3940-3946.
- [23] LI K T, LIN Y B, YANG D Y. One-pot synthesis of pyranocoumarins via microwave-assisted pseudo multi-component reactions and their molecular switching properties [J]. *Org Lett*, 2012, 14(5): 1190-1193.
- [24] OTSUKA H, UCHIMURA E, KOSHINO H, et al.

- Anomalous binding profile of phenylboronic acid with N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) in aqueous solution with varying pH[J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(12): 3493-3502.
- [25] GOPAUL K P, CROOK M A. Sialic acid: a novel marker of cardiovascular disease? [J]. *Clin Biochem*, 2006, 39(7): 667-681.
- [26] WU X, LI Z, CHEN X X, et al. Selective sensing of saccharides using simple boronic acids and their aggregates[J]. *Chem Soc Rev*, 2013, 42(20): 8032-8048.

Recognition and optical sensing of sialic acid via coumarin-hemicyanine-phenylboronic acid

ZHANG Shuying, GUO Lin'e, LI Zhao, JIANG Yunbao*

(Key Laboratory of Spectrochemical Analysis & Instrumentation, Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: A colorimetric and fluorescent chemosensor CHB was designed and synthesized, using a coumarin-hemicyanine conjugate skeleton as the signal reporter and phenylboronic acid as the receptor. The interactions of CHB with N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) and other saccharides such as glucose, sucrose, maltotriose were investigated using absorption and fluorescence spectroscopy. Significant absorption and fluorescence spectral responses and obvious color changes were only observed in the presence of Neu5Ac, whereas the other saccharides produced weak spectral changes and exerted practically no interference. And it was proved with high resolution mass spectroscopy (HRMS) that CHB and Neu5Ac formed a complex via covalent bonding at a ratio of 1 : 1. It was suggested that Neu5Ac modulated the intramolecular charge transfer of coumarin-hemicyanine conjugate system in CHB together with the covalent interaction and electrostatic interaction, allowing a highly selective spectral sensing of Neu5Ac, with the potential of visual recognition.

Keywords: coumarin-hemicyanine; N-acetylneuraminic acid; intramolecular charge transfer; visual recognition