

学校编码: 10384
学号: 20520101151530

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

巯基氨基酸及次氯酸光学分子传感器的
设计研究初探

Primary Investigation of Optical Molecular Chemosensors
for biological thiols and HClO

张小娟

指导教师: 郑 洪 副教授

专业名称: 分 析 化 学

论文提交日期: 2013 年 6 月

论文答辩时间: 2013 年 6 月

学位授予日期: 2013 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2013 年 6 月

**Primary Investigation of Optical Molecular Chemosensors
for biological thiols and HClO**

A Dissertation Submitted for the Degree of
Master of Science

By

Xiaojuan Zhang

Supervisor: Associate Prof. Hong Zheng

Department of Chemistry, Xiamen University

June 2013

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明)。

声明人(签名):

2013年6月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人：

年 月

摘要

分子传感器的重要特征就是能够将物质的化学组成信息转换为可测量的光电信号，因而具有灵敏度高、操作简便、易于实现快速检测的优点。在生命科学的高端研究领域具有无可代替的作用，分子传感器不断受到重视和发展。本文在前人工作的基础上根据一些特异性化学反应设计合成了若干光学分子传感器。本论文共分四章，分别包括以下内容：

第一章，绪论，首先简要介绍了光学分子传感器的基本概念；其次重点介绍了巯基氨基酸、次氯酸的分子传感器的研究现状和进展；最后，对这些相关研究进行分析总结，结合本实验室的工作基础和现有条件，提出本论文的研究设想。

第二章，研究了吡啶取代七次甲基花菁作为巯基氨基酸光学分子传感器的光谱特性。本章基于芳香亲核取代反应，建立了一种在 pH 8.40 的水相中近红外荧光检测巯基氨基酸的新方法，该方法具有很好的灵敏度。巯基氨基酸的加入使体系的颜色由青色变成蓝色，表明该传感体系可用于巯基氨基酸的“裸眼”检测，且测定波长位于近红外区，大大降低了生物分子或基质背景的干扰。

第三章，研究了新型硫取代七次甲基花菁衍生物用于巯基氨基酸的传感。该探针利用巯基的竞争取代机制建立了一种半胱氨酸（Cys）、高半胱氨酸（Hcy）高选择性的比率检测新方法。经对照研究，初步认为，Cys、Hcy 与探针 **1** 作用后，反应生成胺基取代的花菁产物，而谷胱甘肽（GSH）与探针 **1** 作用后则生成巯基取代花菁产物。由于巯基取代花菁与胺基取代花菁在光谱上的明显差异，从而实现 Cys、Hcy 与 GSH 的区分。

第四章，研究了基于罗丹明 B 螺环内酰肼衍生物开环机制的次氯酸比色/荧光分子探针。由于次氯酸氧化探针结构中的酰肼键，导致罗丹明开环，实现了在生理 pH 下对次氯酸“off-on”的传感。

关键词：分子传感器；巯基氨基酸；次氯酸

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Abstract

Optical molecular chemosensors (OMCSs) obtain one of the most important point is that it can transform the information of chemical composition in substance to the analytical useful signals. So it has the advantages of high sensitivity, easily operate and fast detection. OMCSs are highly applicable to advanced researches in life sciences. Therefore, OMCSs are attracting much current research interest. We have developed several new optical chemosensors in this research on the basis of previous work of predecessor and some irreversible reactions. This dissertation consists of four chapters summarized as follows:

In chapter 1, a general introduction to the concept and development of optical molecular chemosensors was presented. Then, emphasis was paid on the developments of optical molecular chemosensors for biological thiols and hypochlorous acid. Then, based on the reports of interrelated literatures and the experimental results we had obtained, the objective of this dissertation was proposed.

In chapter 2, the spectral character of a piperazine-substituted tricarbocyanine as a optical molecular chemosensor for biological thiols was studied. Based on nucleophilic aromatic substitution, a new NIR probe for biological thiols in 8.40 pH aqueous solution was developed. Upon addition of biological thiols generate the color change from cyan to blue, indicating that the chemodosimeter could also serve as a high sensitive “naked-eye” indicating for biological thiols. In addition to the high sensitivity and specificity, this NIR chemodosimeter could greatly reduce the background interferences from bio-molecules or matrix.

In chapter 3, a ratiometric optical sensor based on sulfur-substituted tricarbocyanine for highly selective detection of glutathione (GSH) over cysteine (Cys)/homocysteine (Hcy) was reported. The amino groups of Cys/Hcy but not GSH further replace the thiolate to form amino-substituted tricarbocyanine. The

significantly different photophysical properties of sulfur- and amino-substituted tricarbocyanine enable the discrimination of GSH over Cys and Hcy.

In chapter 4, a novel colorimetric and fluorimetric chemosensor for hypochlorous acid in aqueous solution based on spirolactam ring-opening of rhodamine B hydrazide derivative was developed. Based on oxidizing of hypochlorous acid resulted to ring-opening of spirolactone rhodamine B hydrazide, proposing an Off-On fluorescence method for the determination of hypochlorous acid in physiological pH and pure water.

Keywords: chemosensor; biological thiols; hypochlorous acid

摘要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	V
Contents.....	VIII
第一章 绪论	1
第一节 光学分子传感器简介	1
1.1.1 光学分子传感器的概述.....	1
1.1.2 光学分子传感器的设计原理.....	2
第二节 巯基氨基酸光学分子传感器的研究进展	3
1.2.1 引言.....	3
1.2.2 基于与金属离子作用的巯基氨基酸的光学传感器.....	4
1.2.3 基于不可逆化学反应的巯基氨基酸的光学传感器.....	7
第三节 次氯酸 (HClO) 分子荧光探针研究现状	13
1.3.1 次氯酸 (HClO) 分子的细胞生物学简介.....	13
1.3.2 次氯酸 (HClO) 分子荧光探针的研究进展.....	15
第四节 论文设想与目标	20
参考文献	22
第二章 基于七次甲基花菁染料脱保护机制对巯基氨基酸的传感	29
第一节 设计思路	29
第二节 传感分子的合成与表征	30
2.2.1 仪器.....	30
2.2.2 试剂.....	30
2.2.3 探针分子的合成与表征.....	30
第三节 实验结果与讨论	35
2.3.1 实验方法.....	35
2.3.2 结果与讨论.....	35

2.3.2.1 光谱特征.....	35
2.3.2.2 实验条件的优化.....	37
2.3.2.3 选择性.....	40
2.3.2.4 滴定曲线和工作曲线.....	41
2.3.2.5 机理探讨.....	45
2.3.3 结论.....	48
本章小结.....	48
参考文献.....	49
第三章 硫代苯甲酸花菁对巯基氨基酸的识别与传感.....	51
第一节 设计思路.....	51
第二节 传感分子的合成与表征.....	51
3.2.1 仪器.....	51
3.2.2 试剂.....	52
3.2.3 传感分子的合成与表征.....	52
第三节 实验结果与讨论.....	55
3.3.1 实验方法.....	55
3.3.2 结果与讨论.....	55
3.3.2.1 光谱特征.....	55
3.3.2.2 实验条件的优化.....	58
3.3.2.3 选择性.....	61
3.3.2.4 滴定曲线和工作曲线.....	62
3.3.2.5 机理探讨.....	66
3.3.3 结论.....	75
本章小结.....	75
参考文献.....	76
第四章 罗丹明 B 内酰肼类化合物对次氯酸的识别与传感.....	77
第一节 探针分子设计的基本思路.....	77
第二节 探针分子的合成与表征.....	77
4.2.1 仪器.....	77

4.2.2 试剂.....	78
4.2.3 探针分子的合成与表征.....	78
4.2.3.1 探针分子 1 的合成与表征.....	78
第三节 实验结果与讨论.....	80
4.3.1 实验方法.....	80
4.3.2 结果与讨论.....	81
4.3.2.1 光谱特征.....	81
4.3.2.2 实验条件的优化.....	82
4.3.2.3 选择性.....	84
4.3.2.4 工作曲线.....	87
4.3.2.5 机理探讨.....	88
4.3.3 结论.....	90
本章小结.....	90
参考文献.....	91
硕士阶段发表的文章.....	92
致谢.....	93

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	III
Contents in Chinese	V
Contents in English	VIII
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Brief introduction of optical molecular chemosensors	1
1.1.1 Summarization of optical molecular chemosensors	1
1.1.2 Basic principles of designing optical molecular chemosensors.....	2
1.2 Research progress on fluorescent chemosensors for biological thiols	3
1.2.1 Introduction.....	3
1.2.2 Optical molecular chemosensors for biological thiols based on the action of metal ions.....	4
1.2.3 Optical molecular chemosensors for biological thiols based on irreversible and specific reactions.....	7
1.3 Research progress on fluorescent chemosensors for HClO	13
1.3.1 Cell biology introduction of HClO	13
1.3.2 Research progress of HClO fluorescent probes	15
1.4 The objective of this dissertation	20
References	22
Chapter 2 Sensing of biological thiols based on the deprotection of tricarboyanine	29
2.1 Basic idea about the design of the probe molecule	29
2.2 Synthesis and characterization of the sensor molecule	30
2.2.1 Apparants.....	30
2.2.2 Reagents.....	30

2.2.3 Synthesis and characterization of the probe molecule	30
2.3 Results and discussion	35
2.3.1 Experimental.....	35
2.3.2 Results and discussion	35
2.3.2.1 Spectral characteristics.....	35
2.3.2.2 Optimization of experimental conditions	37
2.3.2.3 Selectivity	40
2.3.2.4 Calibration graphs	41
2.3.2.5 Discussion about the mechanism	45
2.3.3 Conclusion.....	48
Summary	48
References	49
Chapter 3 Sensing of biological thiols with thiobenzoic acid-substituted tricarbocyanine	51
3.1 Basic idea about the design of the probe molecule	51
3.2 Synthesis and characterization of the sensor molecule	51
3.2.1 Apparants.....	51
3.2.2 Reagents.....	52
3.2.3 Synthesis and characterization of the probe molecule	52
3.3 Results and discussion	55
3.3.1 Experimental.....	55
3.3.2 Results and discussion	55
3.3.2.1 Spectral characteristics.....	55
3.3.2.2 Optimization of experimental conditions	58
3.3.2.3 Selectivity	61
3.3.2.4 Calibration graphs	62
3.3.2.5 Discussion about the mechanism	66
3.3.3 Conclusion.....	75
Summary	75

References	76
Chapter 4 Sensing of HClO with Rhodamine B hydrazide	77
4.1 Basic idea about the design of the probe molecule	77
4.2 Synthesis and characterization of the sensor molecule	77
4.2.1 Apparants.....	77
4.2.2 Reagents.....	78
4.2.3 Synthesis and characterization of the sensor molecule.....	78
4.2.3.1 Synthesis and characterization of the sensor molecule 1.....	78
4.3 Results and discussion	80
4.3.1 Experimental.....	80
4.3.2 Results and discussion	81
4.3.2.1 Spectral characteristics.....	81
4.3.2.2 Optimization of experimental conditions.....	82
4.3.2.3 Selectivity	84
4.3.2.4 Calibration graphs	87
4.3.2.5 Discussion about the mechanism	88
4.3.3 Conclusion.....	90
Summary	90
References	91
Publications during author's studying for Master Degree	92
Acknowledgements	93

第一章 绪论

第一节 光学分子传感器简介

分子识别是自然界生物进行信息存储、复制和传递的基础，例如基因、酶和生物膜的功能都是基于分子识别的原理得以实现的。分子识别是指不同分子间的一种特殊的、专一的相互作用，它既满足相互作用的分子间的空间匹配要求，也满足分子间各种次级键力的匹配，可形象地描述为锁和钥匙间的相互关系。早在1894年，E.Fisher^[1]就已经在他的著名论文里建议以“锁和钥匙”的比喻来描述酶与底物的专一性结合，称之为识别。在超分子体系中，受体分子与底物分子遭遇时，两者相互选择、协同形成次级键；或者受体分子按底物分子的尺寸，通过次级键构筑适合底物分子居留的孔穴结构。因此，分子识别本质上是指主体分子（受体）对客体分子（底物）选择性结合并产生某种特定功能的过程。分子传感器是“分子识别”研究在分析科学新的发展需求下的一种应用形式，由于它在环境或生物微观系统的组织和结构探索方面有着重要应用，所以具有深远的学术意义和光明的应用前景。20世纪80年代以来，分子传感器的研究以极其迅猛的发展势头吸引了分析学家们的注意力，相关研究大量展开，在生命科学^[2-3]、环境科学^[4]、材料科学^[5]、信息科学等^[6]领域得到了广泛的应用。成为当今分析化学领域中最有生命力和探索空间的研究热点之一。

1.1.1 光学分子传感器的概述

分子传感器是一类可以根据待测目标物种的存在而改变自身的某些理化性质（如颜色、光学信号、电化学信号等），从而具有“报告”功能的分子。光学分子传感器是以光学信号的变化来报告目标物种出现的一类分子传感器，与传统的器件传感器相比，具有以下优点：首先，光信号穿透性强而又对生命体无损伤或损伤很小；其次，光信号的导出不需要与传感器（分子）建立电学的“接口”联系；三，光信号具有很好的空间、时间分辨性和大的信噪比，且便于在信号“有”/“无”之间进行切换；四，光信号的检测具有突出的高灵敏度优势，同时又可以通过显微技术进行进一步的信号放大；五，光是一种可视化信号，通过

显微镜或成像技术可以进行直观的原位监测。正是由于这些独特的优点使其满足了探索研究生命微观体系精细组成和结构信息的要求，因而光学分子传感器的设计成为分子识别与传感的主流。

1.1.2 光学分子传感器的设计原理

一般来说，光学分子传感器包含两个亚单元：一是识别单元，另一是信号单元。前者用于选择性的与目标物种（客体）进行作用，后者则把这种作用引起的受体分子的构型变化通过特定的光学信号显示出来^[7]。识别单元和信号单元可由联接臂或直接相联在同一共轭体系中。根据传感过程是否可逆可将光学分子传感器分成两大类：可逆型光学分子传感器和不可逆型光学分子传感器。

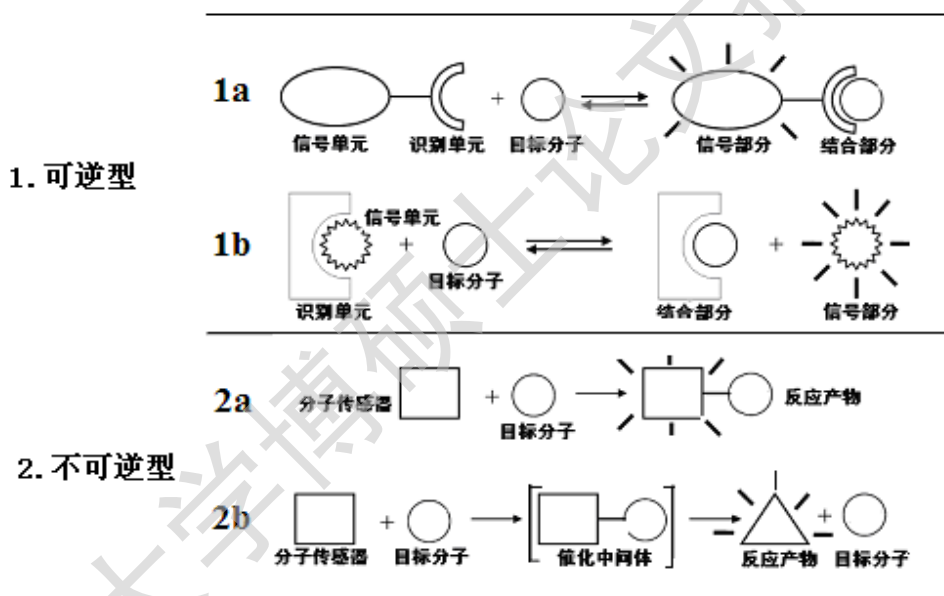


Figure 1.1 光学分子传感器的基本构建方式

可逆型光学分子传感器

根据识别单元和信号单元的连接方式不同，可逆型光学分子传感又可分为两种：i) 识别单元和信号输出单元通过共价键连接（Figure 1.1-1a）。当识别基团与目标物种选择性结合后，影响了受体分子中信号基团的光物理过程，如分子内电荷转移（Intramolecular Charge Transfer, ICT）、光诱导电子转移（Photoinduced Electron Transfer, PET）、电子能量转移（Electronic Energy Transfer, EET）、信号基团之间的单体-激基缔合物（Monomer-Excimer）平衡、或者信号基团的结构刚性等，导致信号基团发光性质的改变，从而达到传感的目的。ii) 识别单元

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库