

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 21720061152248

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

红区荧光探针四磺基铝酞菁  
在生化分析的应用研究

Investigation on tetrasulfonated aluminum phthalocyanine  
for its applications in analytical biochemistry

陶 云

指导教师姓名: 李东辉 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2011 年 4 月

论文答辩时间: 2011 年 6 月

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2011 年 月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 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,该学位论文为厦门大学医学院抗癌研究中心李东辉教授课题组的科研成果,获得李东辉教授课题组经费的资助,在生物医学分子光谱学实验室完成。

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

# 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（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

中文摘要 .....	I
英文摘要 .....	III
<b>第一章 前 言 .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 酞菁化合物的结构和性质.....</b>	<b>2</b>
1.1.1 酞菁的基本结构.....	2
1.1.2 酞菁的基本性质.....	2
1.1.3 酞菁类化合物的分子光谱特性.....	3
<b>1.2 酞菁的分类.....</b>	<b>3</b>
1.2.1 按金属类型分类.....	3
1.2.2 按溶解性分类.....	3
1.2.3 按对称性分类.....	4
1.2.4 按空间结构分类.....	4
<b>1.3 酞菁化合物的合成.....</b>	<b>4</b>
1.3.1 固相合成法.....	5
1.3.2 液相合成法.....	5
<b>1.4 酞菁化合物的研究进展.....</b>	<b>6</b>
1.4.1 高新技术材料.....	6
1.4.2 光动力治疗.....	6
1.4.3 酞菁化合物在分析科学领域的研究应用.....	6
<b>1.5 论文研究目的与主要内容.....</b>	<b>13</b>
参考文献.....	15
<b>第二章 四磺基铝酞菁作为胃蛋白酶测定的红区荧光探针.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 引言 .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2 实验部分 .....</b>	<b>22</b>
2.2.1 仪器与试剂.....	22
2.2.2 实验方法.....	23
<b>2.3 结果与讨论.....</b>	<b>23</b>
2.3.1 $AlS_4Pc$ 的分子结构和光谱特性.....	23

2.3.2 缓冲溶液和 pH 的选择.....	25
2.3.3 温度的影响.....	26
2.3.4 反应时间的影响.....	27
2.3.5 干扰实验.....	28
2.3.6 标准曲线.....	28
2.3.7 样品分析.....	29
2.4 小结.....	31
参考文献.....	31
<b>第三章 红区荧光探针四磺基铝酞菁用于十二烷基苯磺酸钠和多聚赖氨酸的测定 .....</b>	<b>34</b>
3.1 引言.....	34
3.2 实验部分.....	34
3.2.1 试剂与仪器.....	34
3.2.2 实验方法.....	35
3.3 结果与讨论.....	35
3.3.1 多聚赖氨酸测定.....	36
3.3.2 十二烷基苯磺酸钠的测定.....	40
3.4 小结.....	43
参考文献.....	43
<b>第四章 酞菁类化合物的 Ames 试验研究 .....</b>	<b>45</b>
4.1 引言.....	45
4.2 实验部分.....	46
4.2.1 试剂及仪器.....	46
4.2.2 实验方法.....	47
4.3 结果与讨论.....	52
4.3.1 菌株的鉴定结果.....	52
4.3.2 平板渗入法测试结果.....	53
4.3.3 结果分析.....	55
4.4 小结.....	58
参考文献.....	59
附录：硕士期间发表的论文.....	60
致谢.....	61



# CONTENTS

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>III</b>
<b>Chapter 1 Prologue</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Structures and properties of phthalocyanines</b> .....	<b>2</b>
1.1.1 Basic structures of phthalocyanines.....	2
1.1.2 Basic properties of phthalocyanines .....	2
1.1.3 Molecular spectral characteristics of phthalocyanines .....	3
<b>1.2 Classification of phthalocyanines</b> .....	<b>3</b>
1.2.1 Classified by chelated metal .....	3
1.2.2 Classified by solubility .....	3
1.2.3 Classified by symmetry.....	4
1.2.4 Classified by spatial structure.....	4
<b>1.3 Syntheses of phthalocyanines</b> .....	<b>4</b>
1.3.1 Syntheses in solid phase.....	5
1.3.2 Syntheses in liquid phase .....	5
<b>1.4 Research progress of phthalocyanines</b> .....	<b>6</b>
1.4.1 High-tech materials .....	6
1.4.2 Photodynamic therapy .....	6
1.4.3 Application in analytical sciences.....	6
<b>1.5 Paper Design</b> .....	<b>13</b>
<b>References</b> .....	<b>15</b>
<b>Chapter 2 Determination of pepsin using tetrasulphonated aluminium phthalocyanine as red-region fluorescence probe</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1 Introduction</b> .....	<b>22</b>
<b>2.2 Experimental</b> .....	<b>22</b>
2.2.1 Apparatus and materials.....	22
2.2.2 Experimental methods .....	23
<b>2.3 Results and discussion</b> .....	<b>23</b>
2.3.1 Molecular structure and spectral characteristic of AlS4Pc .....	23

---

2. 3. 2 Effect of pH and buffer system .....	25
2. 3. 3 Effect of temperature .....	26
2. 3. 4 Effect of reaction time.....	27
2. 3. 5 Interferences.....	28
2. 3. 6 Calibration curve.....	28
2. 3. 7 Analysis of practical samples.....	29
<b>2. 4 Conclusions .....</b>	<b>31</b>
<b>References .....</b>	<b>31</b>
<b>Chapter 3 Determination of sodium dodecyl benzene sulfonate using aluminium tetrasulphonated phthalocyanine as red-region fluorescence probe .....</b>	<b>34</b>
<b>3. 1 Introduction .....</b>	<b>34</b>
<b>3. 2 Experimental.....</b>	<b>34</b>
3. 2. 1 Apparatus and materials.....	34
3. 2. 2 Experimental methods .....	35
<b>3. 3 Results and discussion.....</b>	<b>35</b>
3. 3. 1 Determination of PLL.....	36
3. 3. 2 Determination of SDBS .....	40
<b>3. 4 Conclusions .....</b>	<b>43</b>
<b>References .....</b>	<b>43</b>
<b>Chapter 4 Ames test of phthalocyanine compounds .....</b>	<b>45</b>
<b>4. 1 Introduction .....</b>	<b>45</b>
<b>4. 2 Experimental section .....</b>	<b>46</b>
4. 2. 1 Apparatus and materials.....	46
4. 2. 2 Experimental methods .....	47
<b>4. 3 Results and discussion.....</b>	<b>52</b>
4. 3. 1 Identification of test strains.....	52
4. 3. 2 Results of osmosis test.....	53
4. 3. 3 Discussion.....	55
<b>4. 4 Conclusions .....</b>	<b>58</b>
<b>References .....</b>	<b>59</b>
<b>Appendix: Publications .....</b>	<b>60</b>
<b>Acknowledgement .....</b>	<b>61</b>

## 摘要

酞菁化合物物理化学性质十分稳定,独特的光、电、磁等特性使之应用于各个领域,本文拟用自行制备的强荧光化合物四磺基铝酞菁对其在生化分析领域的应用做进一步的研究,并对5种酞菁化合物的生物安全性进行初步的考察。本文共分为四章。

第一章:前言。对酞菁化合物的基本性质、合成及其在分析科学中的应用进行了总结,主要介绍了酞菁应用于红区荧光探针、模拟酶催化、共振瑞利散射法定量分析领域的新进展。

第二章:建立了胃蛋白酶的荧光分析新方法。酸性介质中,  $AlS_4Pc$  可与牛血清白蛋白(BSA)结合,荧光显著猝灭,在此条件下,于  $AlS_4Pc$ -BSA 体系中加入胃蛋白酶(Pepsin),体系中的  $AlS_4Pc$  荧光显著恢复,其恢复的程度与加入酶的量成正比,并考察了缓冲液体系、缓冲液pH值、反应温度、反应时间、干扰物质对此反应体系的影响。胃蛋白酶加入量与体系荧光恢复程度的线性关系,据此建立了胃蛋白酶荧光均相定量的分析方法,该法应用于实际样品的测定,取得了满意的结果。

第三章:建立了基于竞争作用、以  $AlS_4Pc$  为探针测定十二烷基苯磺酸钠(SDBS)的新方法。酸性介质中,带正电的多聚赖氨酸(PLL)与带负电的  $AlS_4Pc$  结合,  $AlS_4Pc$  的荧光显著猝灭,在  $AlS_4Pc$ -PLL 体系中加入十二烷基苯磺酸钠(SDBS),体系的荧光显著恢复。本章基于此现象建立了多聚赖氨酸和十二烷基苯磺酸钠定量分析方法,并对缓冲溶液体系、缓冲pH、反应温度、反应时间等反应条件作出相应的优化,该法简便快速、灵敏度高、选择性好,用于实际样品的测定,取得了满意的结果。

第四章:以经典的Ames试验对几种常见酞菁化合物的生物安全性进行初步评估。酞菁由于具有独特而优异的物理化学性质而一直受到广泛研究,近年来酞菁化合物更是在材料、能源、信息、医疗领域表现出许多潜在的应用价值。鉴于其对人类与环境可能危害性,本章以Ames试验研究了四酰胺铝酞菁、四羧基锌酞菁、四酰胺铁酞菁、四硝基锌酞菁、四磺基铝酞菁5种酞菁化合物的致突变性,

研究表明四硝基锌酞菁有移码致突变性，其余4种酞菁化合物受试物为Ames致突变阴性。

**关键词：**酞菁；荧光探针；荧光恢复；致突变；Ames试验

厦门大学博硕士论文摘要库

## Abstract

Phthalocyanine compounds, with excellent physical and chemical stability, have been applied in various fields benefiting from its peculiar light, electricity, magnetism characteristics. We made a further investigation with strongly fluorescent aluminium tetrasulphonated phthalocyanine for application in analytical biochemistry. This thesis is divided into four chapters.

In chapter one, the synthesis, characteristics and applications of metal phthalocyanines in analytical sciences were reviewed. It mainly focuses on the research developments in their applications in fluorescence techniques, model enzyme catalysis, and analytical biochemistry.

In chapter two, we found that the fluorescence of aluminium tetrasulphonated phthalocyanine (AlS<sub>4</sub>Pc) was extremely quenched by bovine serum albumin (BSA), but recovered dramatically after the addition of pepsin in acidic media. Based on this phenomenon, a new method was developed for homogeneous determination of pepsin. The effect of pH, buffer system, reaction time, reaction temperature and coexisting substances had been investigated. The constructed method was applied to the determination of pepsin in practical samples with satisfactory results.

In chapter three, it was found that strong association between the negatively charged  $\epsilon$ -poly-L-Lysine (PLL) and the positively charged AlS<sub>4</sub>Pc occurred in acidic media, led to dramatic fluorescence quenching of AlS<sub>4</sub>Pc. The fluorescence of the system recovered obviously in the presence of sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS). Based on this phenomenon, a new method was developed for the determination of PLL and SDBS. The constructed method can be used to quantitative determination of SDBS in practical samples with satisfactory result.

In chapter four, Ames tests on metal phthalocyanines were carried out. Due to the special and excellent physicochemical properties, phthalocyanine compounds have been extensively researched in the areas relating to tremendous potential values

in material, energy, message, medical fields in last decades. In consideration of its possible harm to people and environment, preliminary research on biological security of five sorts of phthalocyanine compounds has been studied by a classic assay, Ames test, the results indicated that Tetra-substituted nitro zinc phthalocyanine showed mutagenicity with frameshift mutation while other four kinds of phthalocyanine compounds showed negative results of mutagenicity.

**Key Words:** Phthalocyanine; Fluorescence Probe; Fluorescence Recovery, Ames test

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 第一章 前言

酞菁 (phthalocyanine, Pc) 是一类具有多功能、多用途的化合物, 于1907年由Braun 等人偶然发现<sup>[1]</sup>。1933年, Linstead 研究小组测定了这些化合物的结构, 并首次命名为“酞菁”。1935年, Robertson 教授用单晶X-射线分析法确定了酞菁化合物的结构<sup>[2]</sup>。从酞菁问世到现在的100余年, 有超过5000种酞菁化合物相继被合成出来。其用途也由最初的有机颜料和工业染料扩展到其他高新技术领域。酞菁因其特殊的光、电、磁性和其特殊的天然卟啉类似结构, 一直受到广泛关注与研究, 并在能源、信息、材料、医学领域表现出巨大的潜在价值<sup>[3-4]</sup>。图 1-1是美国科技信息所 (ISI) 的科学引文索引数据库 (SCI) 和 Elsevier 数据库中, 近6年有关研究酞菁 (以phthalocyanine为主题词, 检索范围为标题、摘要和关键词) 文章的收录情况。可以看出近几年来有关酞菁的研究一直呈现稳定增长的趋势。

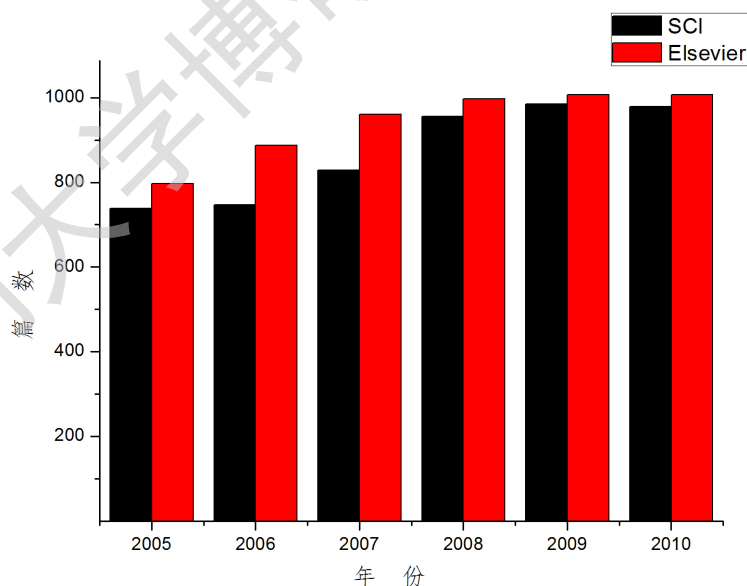


图 1-1 近6年来研究酞菁的相关文献统计

Fig.1-1 Literatures of phthalocyanines published in the last 6 years

## 1.1 酞菁化合物的结构和性质

### 1.1.1 酞菁的基本结构

酞菁的结构（图1-2）与天然有色物质叶绿素和血红素的结构非常相似，它们都以大环为母体，只是环上的取代基不同。在酞菁分子中，4个异吡咯环组成十六员环，碳和氮在环上交替地排列，形成一个有18个 $\pi$ 电子的环状共轭芳香体系<sup>[5-6]</sup>。

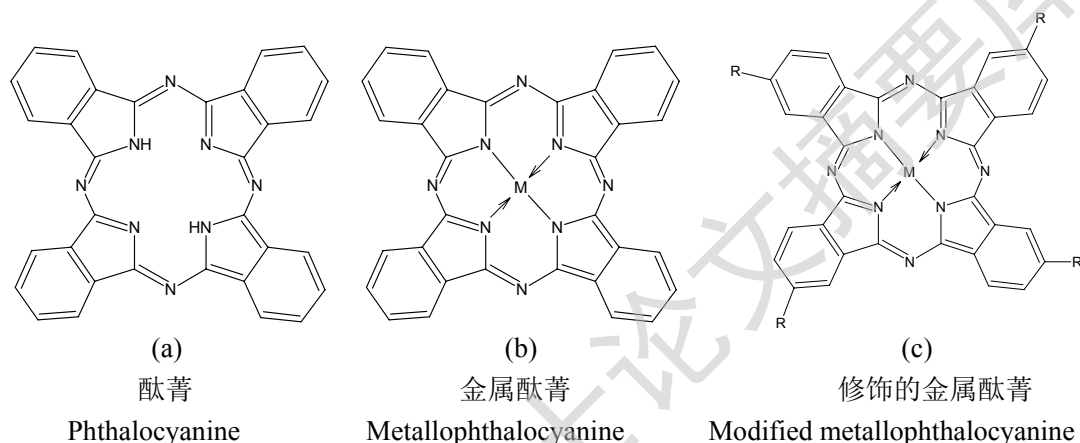


图 1-2 酞菁及其衍生物的结构

Fig.1-2 Molecular structures of phthalocyanine and its derivatives

酞菁化合物分子中心的2个氢原子与氮形成共价键，可被不同的金属取代。另2个氮原子以配位键与金属键合成十分稳定的络合物。能和酞菁络合的元素目前已知有70多种金属元素和一部分非金属元素<sup>[7]</sup>。酞菁的苯环上可以引入多种取代基，如烷基、氨基、硝基、磺酸基、羧基、卤素、苄基、硫氰基、苯基、烷氧基、芳氧基等，从而得到酞菁的许多衍生物<sup>[8]</sup>。

### 1.1.2 酞菁的基本性质

由于大平面分子间的强烈作用，酞菁化合物不溶于水，难溶于一般的有机溶剂。在单核酞菁的周边或轴向上引入亲油或亲水取代基可以改善其溶解性<sup>[9]</sup>。酞菁的物理化学性质十分稳定，耐热性非常好，在空气中分解温度大于400℃，在真空中大于900℃。酞菁对强酸、碱等化学试剂十分稳定，只有苛刻的条件下才能改变酞菁的结构。



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](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库