

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 24520081153488

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

Al、Zn 阳离子酞菁的合成
及其在核酸测定中的应用初探

Preliminary investigations on the synthesis of Al, Zn cationic
phthalocyanines and their application in the determination of nucleic acid

王敬

指导教师姓名: 李东辉

专 业 名 称: 药物化学

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: 2011 年

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

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抗癌研究中心李东辉课题(组)的研究成果,获得厦门大学抗癌研究中心李东辉课题(组)经费或实验室的资助,在厦门大学抗癌研究中心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

摘要

酞菁化合物是一类具有共面的 18π 电子共轭大环体系的化合物，其苯环上可引入各类取代基，具有结构可修饰性好和剪裁性强的特点，通过改变酞菁及其衍生物酞菁环上取代基的种类和位置、中心配位原子的种类以及轴向配体，可使其具有显著不同的物理化学性质、分子光谱性质、光电性质、电化学性质、氧化还原性质等。酞菁化合物易于合成，化学性质稳定，有的具有较高荧光量子产率，且发射在红区并可进行长波激发，是一类理想的荧光试剂。

阳离子酞菁荧光化合物是近年来兴起的一种新型的荧光探针，与普通酞菁相比，阳离子酞菁因带有正电荷而具有良好的水溶性。该类化合物具有红区发射的特性，可有效避开背景荧光和散射光的干扰，且光漂白作用小。在一定条件下，阳离子酞菁易与带阴离子基团的生物大分子发生静电作用而形成离子缔合物，从而引起阳离子酞菁本身荧光性质的变化。因此，可望利用阳离子酞菁的这一性质，将其作为分子探针，用于检测生物大分子在的含量或生物微环境的变化。

核酸在 pH 4-11 带负电，具有很强的和阳离子酞菁结合的能力，本文以阳离子酞菁作为荧光探针开发了一种检测核酸的新方法。

本文在课题组酞菁化合物系列研究的基础上，继续开拓酞菁类化合物在分析科学中的应用。设计合成了不同结构的阳离子酞菁化合物，探讨了结构与基本性质的关系和环境变化对性质的影响，研究了阳离子酞菁化合物光化学性质及其在生物大分子检测方面的应用。

全文共分四章。

第一章首先介绍了酞菁化合物的结构、性质和应用，着重介绍了它在荧光分析中的应用。同时也结合本文研究所涉及的领域，介绍了酞菁的最新研究进展

第二章报道了合成阳离子酞菁的实验过程以及分离的过程以及合成的酞菁的光谱性质。

第三章报道了以阳离子酞菁作为探针检测DNA的实验过程及结果

第四章报道了合成的其他阳离子酞菁及其他的酞菁化合物，以及酞菁用于小动物活体成像方面的初步实验结果。

关键词：金属酞菁；阳离子酞菁；荧光探针

ABSTRACT

Cationic phthalocyanines are novel phthalocyanine compounds developed in recent years. Compared with hydrophobic phthalocyanine compounds, cationic phthalocyanines are water-soluble, because of the introduction of cationic moieties in the peripheral benzene rings. Fluorescent cationic phthalocyanine compounds are chemically stable and emits in the red-region with a high fluorescence quantum yield, with the advantages of reducing the interference from background fluorescence and scattered light, thus has great potential for applying in scientific research as a fluorescent probe. It was found that cationic phthalocyanines are easily to interact with anionic biomacromolecules, leading to evidently variation in fluorescence behavior, which shows the potential of being used as molecular probes for determination biomacromolecules.

This thesis consists of four chapters.

In chapter 1, the molecular structure and characteristics of phthalocyanine compounds were introduced. The new developments in the applications of phthalocyanines were reviewed. The main point was focused on their applications in fluorescent analysis.

In chapter 2, cationic phthalocyanines were synthesized and purified. The fluorescence behaviors of these compounds were investigated.

In chapter 3, the possibility of cationic phthalocyanine compounds employed as fluorescent probe for the detection of nucleic acids were investigated, the results revealed that cationic aluminum phthalocynine had the potential in quantitative determination of nucleic acids.

In the final chapter, other water-soluble phthalocyanine compounds synthesized in this work were introduced. Besides, preliminary results of using catioic phthalocyanines as novel fluorescent probes for imaging in vivo were presented.

KEY WORDS: Metal phthalocyanine; cationic phthalocyanine; Fluorescent probe

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	II
第一章 绪论	1
第一节 酞菁简介	1
1.1 卟啉的结构	1
1.2 酞菁的历史	1
1.3 酞菁类化合物的结构	2
1.4 带有电荷的酞菁化合物	3
1.5 酞菁类化合物的合成	5
1.6 酞菁的光谱性质	12
第二节 酞菁的应用	13
2.1 酞菁做为荧光探针的应用	14
2.2 酞菁做为光敏剂的应用	14
2.3 酞菁在催化方面的应用	15
2.4 论文设计思路	16
参考文献	17
第二章 阳离子酞菁的合成及其基本性质考察	21
第一节 引言	21
第二节 实验部分	21
2.1 试剂与仪器	21
2.2 3-硝基邻苯二甲腈、4-硝基邻苯二甲腈的提纯 ^{[13][14][15]}	22
2.3 3-硝基锌酞菁和 4-硝基锌酞菁的合成 ^{[17][18][19]}	23
2.4 3-氨基锌酞菁和 4-氨基锌酞菁的合成 ^{[17][19][20][21]}	24
2.5 四取代三甲基碘化铵锌酞菁的合成	24
2.6 3-硝基铝酞菁和 4-硝基铝酞菁的合成	25
2.7 3-氨基铝酞菁及 4-氨基铝酞菁的合成 ^{[2][3]}	26
2.8 四取代三甲基碘化铵铝酞菁的合成	26
第三节 结果与讨论	27
3.1 合成过程讨论	27
3.2 化合物的紫外-可见光谱表征	28
3.3 酞菁化合物的荧光光谱表征	33
结论	37
参考文献	38
第三章 阳离子酞菁荧光猝灭法测定小牛胸腺 DNA	40
第一节 实验部分	40
3.1 仪器与试剂	40
3.2 原理	41

3.3 实验所需溶液的配制.....	42
3.4 实验方法.....	43
3.5 实验方法及结果讨论.....	44
结论.....	48
参考文献.....	49
第四章 金属酞菁合成与应用的其他工作.....	50
第一节 引言.....	50
第二节 实验部分.....	51
2.1 实验药品.....	51
2.2 实验仪器.....	52
2.3 实验动物.....	52
2.4 合成部分实验.....	52
2.5 小动物活体成像.....	55
2.6 结果与讨论.....	56
2.7 活体成像结果讨论.....	57
2.8 合成得到化合物的光谱.....	57
结论.....	59
参考文献.....	60
致谢.....	62

Content

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	II
Chapter 1 Introduction	1
Section 1 Introduction of Phthalocyanines	1
1.1 The structure of porphyrins	1
1.2 History of phthalocyanines.....	1
1.3 The structure of phthalocyanine	2
1.4 Phthalocyanines with charge.....	3
1.5 Synthesis of phthalocyanines.....	5
1.6 Spectroscopic Properties of Phthalocyanines	12
Section II Application of phthalocyanines	13
2.1 Application of Phthalocyanines used as Fluorescence Probe	21
2.2 Application of phthalocyanines used as photosensitizer	14
2.3 The applications of phthalocyanines in catalysis.....	15
2.4 Paper Design	16
References	17
Chapter 2 Synthesis of cationic phthalocyanine and its basic characteristics	21
Section 1 Introduction	21
Section 2 Experimental	21
2.1 Reagents and Instruments.....	21
2.2 Purification of 3 (4) -nitrophthalonitrile	22
2.3 Synthesis of Tetra(Tri)nitrophthalocyanato Zinc	23
2.4 Synthesis of Tetra(Tri) aminophthalocyanato Zinc	24
2.5 Synthesis of Tetra(trimethylammonio) phthalocyanato Zinc	24
2.6 Synthesis of Tetra(Tri)nitrophthalocyanato Aluminum.....	25
2.7 Synthesis of Tetra(Tri) aminophthalocyanato Aluminum	26
2.8 Synthesis of Tetra(trimethylammonio) phthalocyanato Aluminum.....	26
Section 3 Results and discussion	27
3.1 The synthesis	27
3.2 Characterization by UV-Vis spectroscopy	28
3.3 Characterization by fluorescence spectroscopy.....	33
Conclusions	37
References	38
Chapter 3 Determination of calf thymus DNA by Fluorescence	

quenching using cationic phthalocyanine as a probe.....	40
Section 1 Experimental	40
3.1 Reagents and Instruments.....	40
3.2 Principle	41
3.3 Preparation of solution	42
3.4 Methods.....	43
3.5 Results and discussion.....	44
Conclusions	48
References	49
Chapter 4 Other investigations on the synthesis and application of	
metal phthalocyanines.....	50
Section 1 Introduction	50
Section 2 Experimental	51
2.1 Reagents	51
2.2 Instruments	52
2.3 Experimental animals.....	52
2.4 Synthesis	52
2.5 In vivo imaging of small animals.....	55
2.6 Results and discussion.....	56
2.7 Result and discussion of the imaging in vivo	57
2.8 Molecular spectra of compounds synthesized.....	57
Conclusions	59
References	60
Acknowledgements.....	62

第一章 绪论

第一节 酞菁简介

1.1 卟啉的结构

卟啉 (Porphyrin) 是在卟吩 (Porphin) 环上拥有取代基的一类大环化合物的总称^[1]。早在1912年由Kuster提出“四吡咯”结构，当时被认为该结构不稳定，而未被认可，直到1929年由Fishert和Zeile合成了氯高铁卟啉(haemin),其结构才被证实^[2]。

卟啉分子由四个吡咯类亚基的 α -碳原子通过次甲基桥 (=CH-) 相互连接形成的杂环化合物。卟啉环有26个 π 电子，是一个高度共轭的体系，所以一般有很深的颜色。卟啉的结构如图1-1。

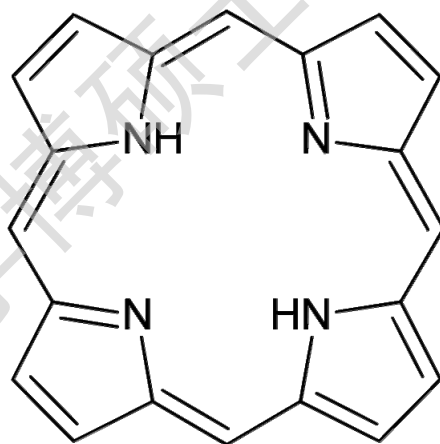


图1-1 卟啉的分子结构示意图

Fig.1-1 Molecular structure of porphyrin

1.2 酞菁的历史

1907年Braun和Tehemiac^[3]在从事有关邻氰基苯甲酰胺的化学性质研究实验中偶然得到了一种蓝色物质，这就是现在被人们称为酞菁的化合物。1923年Diesbach等人^[4]在实验中发现可以用邻二苊溴与氰化亚铜反应制得邻二苊腈，于是他们想用邻二溴苯与氰化亚铜反应来制备邻苯二腈。可实验结果出乎他们的意

料，他们并未得到所期望的邻苯二腈，而是得到一种深蓝色的物质，并且产率达到23%。这种蓝色物质就是现在被称为酞菁铜的化合物。至此，酞菁和金属酞菁化合物被发现。英国学者Linstead^[5]教授在1933年用综合分析法首次测定了该类物质的结构，酞菁正式进入了科学家们研究的领域。研究证明一个酞菁晶胞中有两个酞菁分子，每个酞菁分子都呈现高度的平面结构。这个结构与天然的卟啉类化合物结构很相似，所以酞菁类化合物又被看作是四氮杂卟啉的衍生物。1935年Robertson用X射线的方法测定出了酞菁类化合物的结构^[6]，至此，酞菁类化合物的结构被确定。

1.3 酞菁类化合物的结构

酞菁 (Phthalocyanine)^[7-11]，一般认为是四苯并卟啉的四氮杂衍生物，其母体结构是一个由碳氮共轭双键组成的含有 18- π 电子的大环共轭体系，因此其电子密度非常均匀，所以酞菁环非常稳定。酞菁周边的苯环上与桥联 N 相邻的碳的位置称 α 位，在命名体系中为 1,4,8,11,15,18, 22,25 位碳原子，外侧的则称 β 位，命名体系中为 2,3,9,10,16, 17, 23,24 位碳原子。在苯环上可以引入各种不同的取代基，引入取代基之后称为取代酞菁，取代可以在 α 位也可以在 β 位进行。酞菁的分子结构如图 1-2。在其母体大环的中心位置是一个空腔，空腔的直径约 $2.7 \times 10^{-10} \text{m}$ 。酞菁环的配位数是四，根据金属原子的大小和氧化态，酞菁环得中心空腔可以配位一个或两个金属原子。如果金属趋向于更高的配位数，比如八配位，则金属酞菁的分子会呈角锥体，四面体或八面体结构。铜系和镧系金属是八配位的，这两个系的金属酞菁呈现三明治型结构^[12]。三明治结构酞菁分子如图 1-3。在空腔内的金属原子上也可以进行配位，称为轴向配体。所以酞菁可以和很多元素形成配合物，现在已有报道的中心配位元素多达 70 多种。在加上周边取代基的不同，酞菁衍生物已有成千上万种。

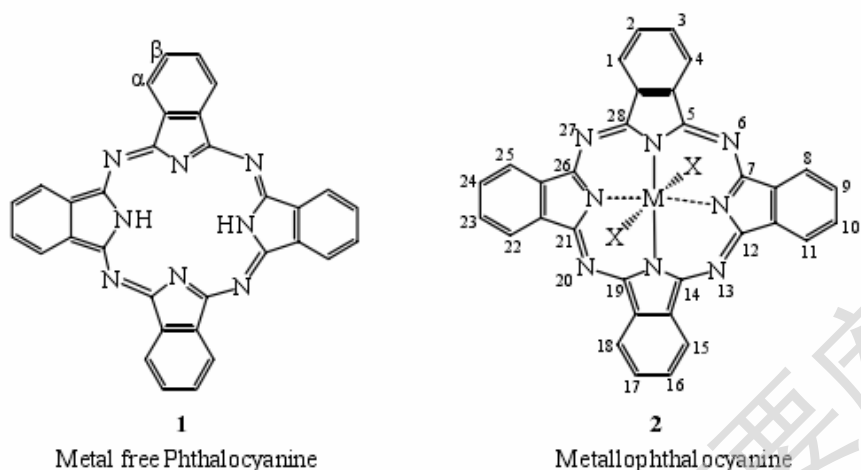


图1-2 取代金属酞菁的分子结构

Fig.1-2 Molecular structure of phthalocyanine compounds.

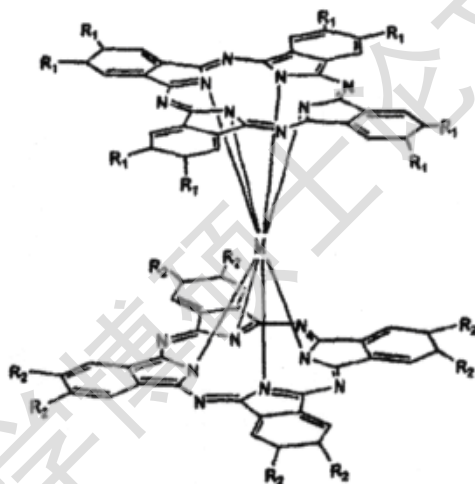


图1-3 三明治型夹心双酞菁分子结构示意图

Fig.1-3 Molecular structure of triple-decker Phthalocyanine compounds

1.4 带有电荷的酞菁化合物

1.4.1 阴离子酞菁化合物

阴离子酞菁即酞菁环上的取代基带有负电荷的酞菁，如四磺基酞菁铝或四磺基酞菁锌等。四磺基金属阴离子酞菁分子结构如图1-4所示。阴离子酞菁在各个领域已经得到了广泛的应用。如魏玲等^[13]用四磺基铝酞菁对核酸做定量测定，高建华等^[14]用四磺基金属酞菁测定人血清白蛋白。

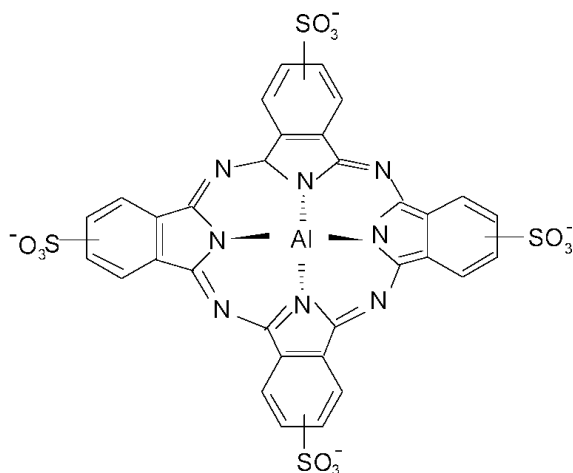


图1-4 四磺基金属酞菁的结构, M=Al、Zn、Cu等等

Fig.1-4 Molecular structure of Zinc phthalocyanine tetrasulphonic acid

1.4.2 阳离子酞菁化合物

阳离子酞菁即酞菁环上的取代基带有正电荷的酞菁。一般通过对取代酞菁上的NH₂的甲基化而得到, 例如Mahmut Durmus, Vefa Ahsen等^[15]采用该法合成了含有4个正电荷的阳离子的镓酞菁和铟酞菁, 合成路线如图1-5。

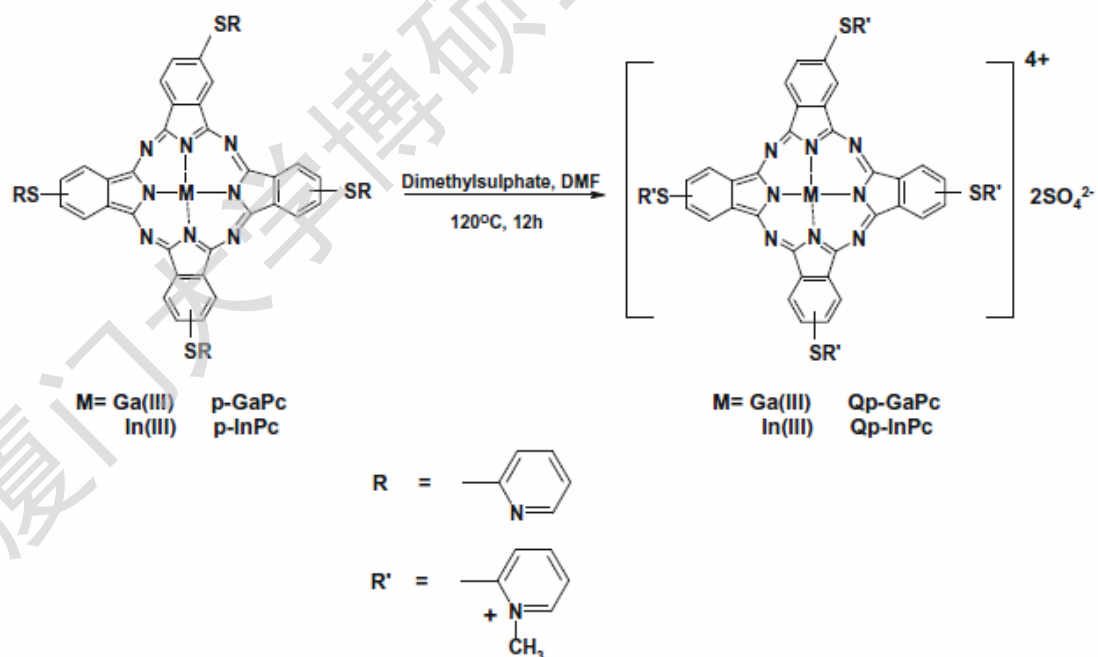


图1-5 阳离子酞菁合成路线图

Fig.1-5 The route of synthesis cationic phthalocyanine

阳离子酞菁具有独特性能, 近年来发表的阳离子酞菁的英文论文较多, 如图

1-6（绿色长方形表示酞菁类的文章数目，红色长方形表示阳离子酞菁的文章数目），可见，阳离子酞菁受到了越来越多的关注。

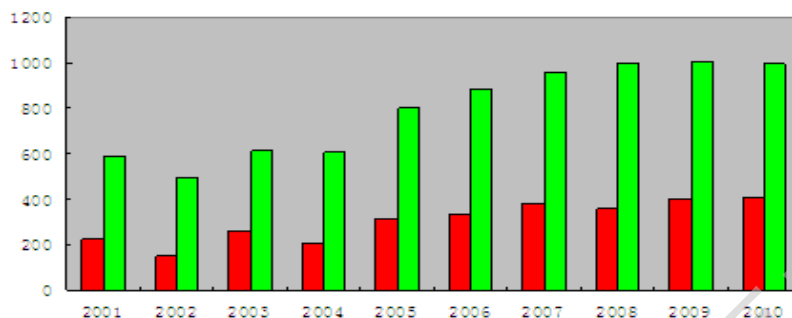


图1-6 近十年酞菁类化合物发表文章数量示意图

Fig.1-6 The number of articles published about phthalocyanine compounds in the last decade

1.5 酞菁类化合物的合成

无取代的酞菁及其配合物由于大环共轭体系中电子的作用，使酞菁分子之间发生强的聚集作用，故无取代酞菁不溶于水和大部分的有机溶剂。而在实际应用方面大多数是要求具有水溶性，这极大的限制了酞菁类的化合物的应用，故对于水溶性酞菁的合成的研究一直受到重视。

酞菁可溶于浓硫酸、氯磺酸、磷酸等强酸中，但是溶解后的溶液以水稀释，酞菁又会析出，此性质常用于测试酞菁类化合物的纯度。

为改善酞菁化合物的溶解性，人们在酞菁环上引入各种不同的取代基，如烷基、硝基、氨基、磺酸基、羧基、卤素、苄基、苯基、芳氧基。

1.5.1 空心酞菁的合成

空心酞菁 (Metal-Free Phthalocyanine) 即中心没有金属原子配位的酞菁分子。Oliver S W和Smith T D^[16]采用模板法合成了 $H_2Pc(NO_2)_4$ 。而梁强等^[17]采用取代基转化法合成了可溶性的空心酞菁磺酸对甲氧基苯酯。其合成路线如图1-7。

空心酞菁在一定的条件下存在分解的现象,这使得空心酞菁在用作光动力疗法的抗癌药物的时候,当作用过后可以采取一定的手段使其自然分解,这样滞留体内的可能性就会变小,可以大大降低毒性并且提高疗效。故空心酞菁在光动力疗法 (PDT) 的应用中未来前景巨大。而引入各种取代基也可以大大改善空心酞

菁的溶解性，所以空心酞菁的发展应用前景及潜力巨大。



图1-7 空心酞菁磺酸对甲氧基苯酯的合成路线

Fig.1-7 Synthetic route for Metal-Free Phthalocyanine

1.5.2 金属取代酞菁的合成

金属酞菁类化合物常规的合成方法都是所谓的“分子片段法”，即采用具有四异吡啶类小环的化合物，例如邻苯二甲腈、邻苯二甲酰胺、二亚氨基异吡啶、邻苯二甲酰亚胺、邻苯二甲酸酐^[18]等小分子，在一定的温度条件下，经过缩合反应，逐步成环，最后缩合关环成为大环共轭的酞菁母环。由于开始这些小分子片段上就可以带有各种取代基，因此合成的过程也可以引入各种取代基。其合成方法主要分成以下几种：

1.5.2.1 按原料分类

一、四聚缩合法（cyclic tetramerization method）

酞菁的合成常用“模板法”，又叫四聚缩合法，即由邻苯二酰衍生物在一定条件下成环，如邻苯二甲酸、邻苯二甲酸酐、邻苯二甲腈、邻苯二甲酰亚胺、1,2-二溴苯或 1,3-二亚氨基异吡啶、邻苯二酚^[19]等。制备金属酞菁常用邻苯二甲腈的金属模板反应，因为相比于其他的起始化合物，采用邻苯二甲腈反应产率最高，副产物也较少。而当制备非金属中心配位酞菁时，一般采用 1,3-二亚氨基异吡啶模板法。在对苯二酚、四氢嘧啶存在下加热邻苯二腈可获得非金属酞菁。

文献中常见的合成法是采用邻苯二甲腈或异吡啶在环丁砜、DMF、DMSO

等高沸点的质子性溶剂中,在相应的金属盐存在下,合成相应的金属酞菁(图 1-8)。优点是产率高,目标产物纯。

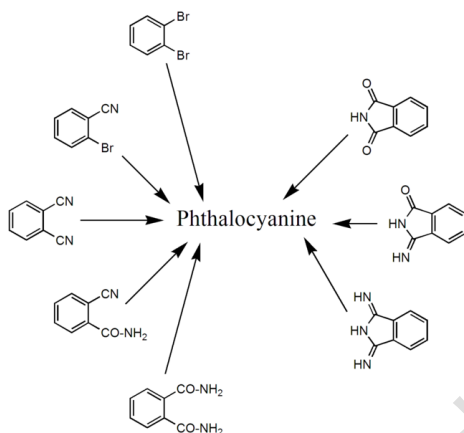


图 1-8 四聚缩合法合成酞菁的路线

Fig. 1-8 cyclic tetramerization method Scheme of synthesis of Phthalocyanine

二、取代基转化法

酞菁环形成以后就不容易被破坏,具有很好的稳定性,因此为取代基转化提供了条件。取代基转化法即先采用模板法合成得到酞菁的前体,或者采用已有的商品化地酞菁分子,然后在苯环上引入各种所需的取代基、或对已有的取代基进行转化,得到不同取代基的目标酞菁分子。在转化的过程中,酞菁的母环一般不会被破坏。此方法一般用于酞菁分子的深度改造。例如用无取代的酞菁用发烟硫酸或氯磺酸直接磺化可以得到磺基酞菁(图1-9)。这种方法合成过程简单,效率高,反应快速,成本较低,因此工业上一般采用此法合成酞菁类染料或者酞菁颜料。但在采用浓硫酸或氯磺酸磺化时,按理论比例1:1投料的话产率会很低,因为在磺化的过程中会产生水,稀释了原来的酸,故在磺化过程中应该加入过量的磺化剂。

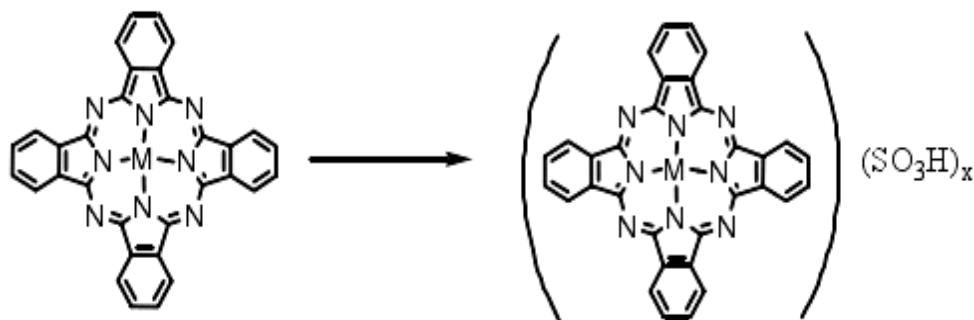


图1-9 磺化法合成磺基酞菁

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