

分类号：
学 号： 20212007002

密 级：公开
单位代码： 10759

石河子大学 硕士学位论文



近红外 BODIPY 荧光探针设计合成及环境污染 物超痕量检测研究

学 位 申 请 人	王晓敏
指 导 教 师	顾承志 副教授
申请学位门类级别	理学硕士
学 科、专 业 名 称	化学
研 究 方 向	有机合成
所 在 学 院	化学化工学院

中国·新疆·石河子
2024 年 6 月

分类号:
学号: 20212007002

密级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学 硕士学位论文



近红外 BODIPY 荧光探针设计合成及环境污染 物超痕量检测研究

学位申请人	王晓敏
指导教师	顾承志 副教授
申请学位门类级别	理学硕士
学科、专业名称	化学
研究方向	有机合成
所在学院	化学化工学院

中国·新疆·石河子
2024年6月

Design, synthesis of NIR BODIPY fluorescent probe and ultra-trace detection of environmental pollutants

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Nature Science

By

Wang Xiao-min
(Organic Chemistry)

Dissertation Supervisor: Associate professor Gu Chengzhi;

June, 2024

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其它个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：王曉敏

时间：2024年5月19日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：王曉敏

时间：2024年5月19日

导师签名：顾承志

时间：2024年5月19日

摘要

多硝基芳烃 (NACs) 是持续性环境污染物, 尤其苦味酸 (Picric acid, PA) 具有极低的挥发性, 对人体皮肤、眼睛产生强烈的刺激, 也是危险的致癌物质。水杨酸 (Salicylic acid, SA) 在细胞微环境中的动态变化可促进对水杨酸诱导的不同生理和病理功能, 在废水中排放, 导致环境污染; 甲醛 (Formaldehyde, FA) 摄入过多会对人体健康造成威胁, 导致多种疾病。若实现对上述分子精准、快速、高灵敏度的检测, 则对环境、生命健康、环境保护等方面具有重大意义。本文以氟硼二吡咯烷 (BODIPY) 为荧光母体, 基于密度泛函理论计算从分子工程角度设计合成一类具有近红外荧光发射 8-芳基-1, 2, 6, 7-四芳基氟硼二吡咯烷 (BODIPY) 探针分子, 实现了对苦味酸、水杨酸和甲醛荧光点亮超痕量检测, 并对荧光点亮机制进行了深入研究。

本文第一章介绍了小分子环境污染物检测的重要意义及目前常用的检测技术, 重点介绍了有机荧光探针的发光机制、设计原则及荧光检测方法的研究进展。结合实验室前人工作提出了本课题的设计思路。

本文第二章首先通过密度泛函理论计算课题设计合成近红外荧光探针分子的基态分子轨道能量, 从理论上证实存在分子内 PET 过程。以此为基础, 介绍了 BODIPY 分子的具体合成路线及步骤。其中 8-对乙酰氨基苯基-1, 2, 6, 7-四苯基氟硼二吡咯烷经脱乙酰基、碱性环境下与三氟化硼乙醚络合得荧光探针分子 (8-对氨基苯基-1, 2, 6, 7-四苯基氟硼二吡咯烷, NH_2PhBDP)。

本文第三章对硝基芳烃和荧光探针分子进行密度泛函理论计算, 证实了检测的可行性。对合成的探针分子在不同溶剂中进行紫外吸收和荧光发射测试。用苦味酸、甲醛、水杨酸对探针分子进行荧光滴定实验, 在线性范围内均有良好的响应; 加入干扰离子并未导致荧光强度明显增强, 有较好的选择性; 其中苦味酸的检出限为 6.2 ppm, 加入苦味酸后荧光强度增大 50 倍; 甲醛的检出限为 183 ppm, 加入甲醛后荧光强度增大 10 倍; 水杨酸的检出限为 0.3 ppm, 加入水杨酸后荧光强度增大 16 倍。由此可知近红外荧光探针可实现环境污染物中的苦味酸、甲醛、水杨酸的荧光点亮 (Turn On) 检测, 具有显著的应用前景。

关键词: BODIPY; PET; 苦味酸; 水杨酸; 甲醛

Abstract

Nitroaromatic hydrocarbons (NACs) are persistent environmental pollutants, especially picric acid (PA) with very low volatility, strong stimulation to human skin and eyes, but also dangerous carcinogens. Salicylic acid (SA), the dynamics of SA in the cellular microenvironment can promote the understanding of different physiological and pathological functions induced by salicylic acid; Formaldehyde (FA) excessive intake can pose a threat to human health and lead to a variety of diseases. Discharge in waste water, resulting in environmental pollution. If the accurate, fast and high sensitivity detection of the above molecules is realized, it is of great significance to the environment, life health and national defense security. A class of probe molecules with near infrared fluorescence emission of 8-aryl-1, 2, 6, 7-tetraphenylborodipyrrolidine (BODIPY) was designed and synthesized based on density functional theory, using BODIPY as the fluorescent parent. The ultra-trace detection of picric acid, salicylic acid and formaldehyde was realized. The mechanism of fluorescence lighting was studied in detail.

In the first chapter, the significance of detection of small molecule environmental pollutants and the commonly used detection technology are introduced, with emphasis on the luminescence mechanism, design principles and research progress of fluorescence detection methods of organic fluorescence probes. Combined with the previous work in the laboratory, the design idea of this topic is put forward.

In the second chapter, the ground state molecular orbital energy of NIR fluorescent probe was calculated by density functional theory, and the existence of intramolecular PET process was confirmed theoretically. On this basis, the synthesis route and steps of BODIPY molecule are introduced. Among them, 8-p-aminophenyl-1, 2, 6, 7-tetraphenylborodipyrrolidine (NH_2PhBDP) was synthesized by deacetylation and complexation with boron trifluoride ether under alkaline environment.

In the third chapter, density functional theory was used to calculate the nitro-aromatics and fluorescent probe molecules, and the feasibility of detection was confirmed. UV absorption and fluorescence emission of the synthesized probe molecules were tested in different solvents. The fluorescence titration of probe molecules with picric acid, formaldehyde and salicylic acid showed good response in linear range. The addition of interference ions did not cause the fluorescence intensity to increase obviously, and it had good selectivity. The detection limit of picric acid was 6.2 ppm, and the fluorescence intensity increased by 50 times after adding picric acid. The detection limit of formaldehyde was 183 ppm, and the fluorescence intensity increased by 10 times after adding formaldehyde. The detection limit of salicylic acid was 0.3 ppm, and the fluorescence intensity increased 16 times after adding

salicylic acid. It can be seen that the near-infrared fluorescence probe can realize the turn on detection of picric acid, formaldehyde and salicylic acid in environmental pollutants, which has a significant application prospect.

Key words: BODIPY; PET; Picric acid; Salicylic acid; Formaldehyde

目录

摘要.....	I
Abstract.....	II
第 1 章 绪论.....	1
1.1 检测小分子环境污染物的重要意义.....	1
1.2 小分子环境污染物的检测技术.....	1
1.2.1 仪器检测的主要方法.....	1
1.2.2 可视化检测方法.....	3
1.3 有机荧光探针的应用.....	4
1.3.1 检测苦味酸的荧光探针.....	4
1.3.2 检测水杨酸的荧光探针.....	7
1.3.3 检测甲醛的荧光探针.....	7
1.3.4 检测其它物质的荧光探针.....	12
1.4 有机荧光检测机制.....	13
1.5 课题设计思路.....	17
第 2 章 BODIPY 荧光探针的设计与合成.....	19
2.1 前言.....	19
2.2 密度泛函理论.....	21
2.3 实验部分.....	22
2.3.1 主要化学试剂和实验仪器.....	22
2.3.2 中间体及荧光探针制备.....	24
2.3.3 产物结构表征.....	34
2.4 BODIPY 结构表征.....	38
2.5 本章小结.....	43
第 3 章 探针分子对环境污染物的检测.....	44
3.1 前言.....	44
3.2 密度泛函理论.....	45
3.3 实验部分.....	50
3.3.1 主要化学试剂和实验仪器.....	50
3.3.2 探针和待测物的制备.....	51

3.3.3 探针分子及其它 BODIPY 分子的光学性质测试	52
3.4 测试不同溶剂中的 NH ₂ PhBDP 的光学性质测试	55
3.5 探针分子对苦味酸的检测	55
3.5.1 探针分子对苦味酸的荧光特性	55
3.5.2 探针分子对苦味酸的响应时间	56
3.5.3 探针对苦味酸的选择性研究	57
3.6 探针分子对水杨酸的检测	57
3.6.1 探针分子对水杨酸的荧光特性	57
3.6.2 探针分子对水杨酸的响应时间	58
3.6.3 探针分子对水杨酸的选择性研究	59
3.7 探针分子对甲醛的检测	60
3.7.1 探针分子对甲醛的荧光特性	60
3.7.2 探针分子对甲醛的响应时间	61
3.7.3 探针分子对甲醛的选择性研究	61
3.8 结果与讨论	62
3.9 本章小结	64
第 4 章 总结与展望	65
4.1 总结	65
4.2 展望	65
参考文献	66
附录	74
致谢	95
作者简介	97

第1章 绪论

1.1 检测小分子环境污染物的意义

多硝基芳烃 (NACs) 是公认的持续性环境污染物, 其中苦味酸 (Picric acid, PA) 不易挥发、不易被生物降解、有良好的水溶性; 对土壤、环境、地下水造成严重污染。在代谢过程中, 苦味酸转化为苦胺酸, 对眼睛、皮肤和呼吸系统有强烈刺激作用; 与苦味酸本身相比, 苦胺酸具有更高的致突变活性, 其致畸变性是苦味酸的十倍。因此, 加强对 PA 的检测是一个值得关注的问题^[1-3]。

水杨酸 (Salicylic acid, SA) 可以在整个细胞周期中指导和决定多种生理过程, 是一种生源性信号分子^[4]; 可促进种子萌发, 参与调节植物的生长、发育、开花速度、衰老以及参与植物对环境的胁迫反应。

甲醛 (Formaldehyde, FA) 在化工和建筑行业中广泛存在^[5]。甲醛可使基因发生突变, 有一定的致癌性, 会导致神经性疾病、癌症、阿尔茨海默症等多种疾病。由于其高反应性而显示出高毒性和致癌作用, 已被世界卫生组织定义为第三大室内化学污染物。

若对上述分子实现精细、快速、高灵敏度的检测, 则对环境及生命体有重要意义。

1.2 小分子环境污染物的检测技术

小分子污染物常用检测技术主要有仪器检测和可视化检测; 其中仪器检测分为气相色谱法、液相色谱法、核磁共振法等。可视化检测方法又分为生物检测和化学检测方法。化学检测方法包括薄层层析色谱法、比色检测法和荧光检测方法。

1.2.1 仪器检测的主要方法

1.2.1.1 气相色谱法

气相色谱法用于分析样品中的各种物质成分, 由于各组分与柱中固定相的相互作用不同, 以不同的速度在柱中移动, 从而以不同的保留时间出现并被分离。但对于不易挥发、高沸点、热不稳定的化合物, 气相色谱法分析比较困难。

1.2.1.2 液相色谱法

液相色谱可以分析不挥发、热稳定性差、易分解、分子量大、极性不同的有机化合物。该方法的特点是检测周期较长、操作复杂、仪器昂贵、不能实时在线检测，定性能力较差且使用多种溶剂作为流动相，分析成本较高。操作过程比气相色谱复杂，在梯度洗脱操作时易造成环境污染。

1.2.1.3 核磁共振检测法

加入内标物后可通过积分确定混合物中某种物质的含量。Nicoletti 课题组报道了使用核磁共振光谱法简便、低成本、快速测定纹身颜料中是否存在苦味酸的方法^[6]。苦味酸添加到产品中目的是为了提提高产品的稠度，以便更好的粘在皮肤上。在核磁谱图中，可以检测到三组峰：1、纹身颜料主要成分 2、苦味酸 3、脂肪酸，证明染料中存在苦味酸。

1.2.1.4 表面增强拉曼检测方法

表面增强拉曼光谱能够痕量检测小分子环境污染物，可以现场使用，所用样品量少，通常操作简单具有非侵入性和非破坏性，可通过透明玻璃、水、塑料进行测量。拉曼检测几乎对水不敏感，这使得生物和环境样品的有效测量成为可能^[7]。拉曼光谱法在样品预处理和测量时间方面比质谱法具有更高的效率。

1.2.1.5 实时串联质谱检测方法

实时串联质谱检测通过分析色谱峰的面积用于有机物的定量分析。利用离子源将样品转化为气态离子，根据质荷比的大小将其分离并记录信息，但用保留时间进行定性分析稍微困难，所用时间较长，不可实时检测。检测仪器不同时，对样品要求不同，且所用仪器设备较贵重，需要专业人员进行操作。

Shuji Kato 课题组发表了一种快速、高灵敏度的选择离子流管-化学电离质谱法检测甲醛的方法^[8]。该技术首次允许在体外测量人类癌细胞中的天然甲醛含量。检测过程可在 30 分钟内完成。

质谱技术在爆炸物检测方面有广泛的研究。Moore D. S. 课题组报道了使用质谱仪由母离子及其碎片质量与电荷比分离物质的方法^[9]。可通过观察-NO₂ 离子形成时的电子能量来区分含有-NO₂ 碎片离子 (C-NO₂、O-NO₂、N-NO₂) 的各种炸药和其它硝基化合物。

Bosco Renato 课题组报道了用超高效液相色谱-串联质谱法 (UHPLC-MS/MS) 对玫瑰叶基质中的内源性水杨酸进行了定量检测^[10]。采用内标法进行测定，在三种不同

浓度下测试的所有植物激素的回收率和可重复性，表现良好。水杨酸的检出限和检测能力为 $0.0089 \mu\text{g}$ 和 $0.018 \mu\text{g}$ ；分析时间短、分辨率高、峰形好。但所用样品量较大；可通过使用反相高效液相色谱-电喷雾电离质谱解决 GC-MS 的局限性。该技术具有较高的分离效率和选择性以及最小的 ESI 矩阵效应，确保了分析物的敏感检测，而无需衍生化^[11]。

通过三重四极杆仪器在多反应监测模式下工作，通过快速占空比和降低化学噪声，提高了串联质谱的灵敏度。现代质谱仪停留时间相对较短，可以对多种激素进行快速检测，但成本较高、选择性差、缺乏实时监测的缺点限制其实际应用。

1.2.2 可视化检测方法

1.2.2.1 化学检测方法-比色法

比色检测方法有利于通过对比大气或水中的颜色变化对分析物进行定性检测。它适用于沸点高、极性高、热稳定性差的化合物分离与分析。

Kenneth S. Suslick 课题组报道了比色法检测甲醛的方法^[12]。甲醛比色法大多数是氨基与甲醛反应，形成亚胺导致颜色发生变化。聚合物薄膜在甲醛蒸汽中暴露 1 分钟后，肉眼可观察到明显的颜色变化。聚合物薄膜的比色响应可用于甲醛浓度的定量分析。比色法可以通过肉眼观察到明显颜色变化，但选择性和抗干扰性较差。

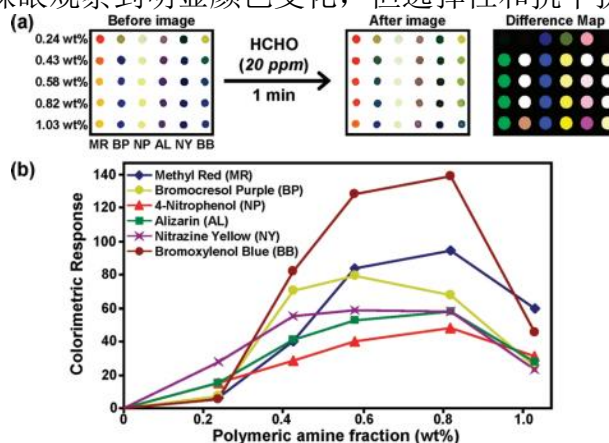


图 1-1 (a) 暴露于甲醛 1 分钟前后的图像、颜色变化曲线，(b) 比色响应

Figure 1-1 (a) Images and color change curves before and after exposure to formaldehyde for 1 minute, (b) colorimetric response

1.2.2.2 酶联免疫法

酶联免疫检测苦味酸是基于抗体对分析物和由此产生的免疫复合物进行的特异性检测^[9]。爆炸物应用方面的主要发展是衍生分析物的特异性抗体，以最大限度地提高目