

文章编号:1673-0062(2016)03-0079-05

含氟席夫碱配体及其 Zn 配合物的合成与表征

杜可杰,赵 媛,林英武

(南华大学 化学化工学院,湖南 衡阳 421001)

摘 要:含 salophen 配体的锌金属配合物具有优异的荧光性能,成为生物荧光探针研究领域的重要研究对象.本文合成含氟 salophen 配体及其相应的 Zn(salophen)金属配合物,分别采用¹H NMR、IR、LC-MS、元素分析对其进行详细的表征.结果表明,Zn 金属与配体及甲醇中氧、氮形成五配位结构.紫外—可见光谱研究显示,Zn(salophen)金属配合物在 295 nm、397 nm 处有典型特征吸收峰.荧光光谱显示,在 397 nm 波长激发下,配合物在 507 nm 有最大荧光发射峰.结果表明该配合物具有潜在的作为生物荧光探针的研究价值.

关键词:锌金属配合物;荧光;氟取代

中图分类号:0627.23 **文献标识码:**B

The Synthesis and Characterization of Zn Metal Complex Containing Salophen Ligand with Fluorine Substituted Group

DU Ke-jie, ZHAO Yuan, LIN Ying-wu

(School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: In the past few decades, Zn(II) metal complexes has attracted a great deal of interest as biological probes in living cell imaging, because of their photophysical properties such as high luminescence, good photostability. In this work, a zinc complex containing fluorine substituted group, Zn(salophen), was designed and synthesised. The sample was characterized by ¹H NMR, IR, LC-MS and elemental analysis. Results suggested that the zinc metal displays a square-planar arrangement formed by the N/O-donor atoms, while the axial position bind a solvent molecule. In the presence of good donor solvents, Zn(salophen) metal complex form five-coordinate structure. The absorption spectrum of zinc complex consists of two distinguishable bands at 295 and 397 nm in ethanol solution, while consisting of two bands at 297 and 404 nm in DMSO solution. Zn(salophen) metal complex

收稿日期:2016-05-25

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(14JJ6022);衡阳市科学技术发展计划基金资助项目(2015KJ03)

作者简介:杜可杰(1983-),男,山东潍坊人,南华大学化学化工学院讲师,博士.主要研究方向:生物无机化学.

exhibits emission with maximum emission wavelength at 507 nm.

key words: zinc metal complex; fluorescence; fluorine substitution

分子荧光成像是生物分子成像中最具代表性的成像方式之一,它具有分辨率高、灵敏度好及无辐射等特点.近几年来,由于随着生物体内化学发光成像技术的发展,分子荧光研究,特别是细胞内选择性生物荧光探针的研究,在近几年引起广大研究者的关注^[1-2].但是,目前,大部分生物荧光探针为有机小分子化合物^[3].相对于有机小分子荧光化合物而言,过渡金属配合物由于具有发光效率高、荧光寿命长、光稳定性好、stokes 位移大等特点,被广泛应用于生物荧光探针研究.相比于荧光蛋白与荧光纳米颗粒,小分子金属荧光探针具有使用方便、选择性强、容易进入细胞等特点.目前,过渡金属荧光探针研究对象主要集中在 Re、Ir、Ru、Pt 等过渡金属^[4-5].并且已有多种理想的金属配合物荧光探针应用于细胞膜、细胞质、线粒体、溶酶体等的定位成像^[6],如巢晖课题组相继报道了系列可以用于细胞线粒体内 NO 的有效荧

光成像检测的 Ir 配合物^[7].但是 Ir、Pt 金属配合物作为细胞内荧光探针,往往存在比较大的细胞毒性,金属锌为 d_{10} 电子结构元素,具有良好的光电性质,而且 Zn 金属是多种生物酶的活性中心,具有良好的生物相容性,因此,通过合理设计,引入不同柔性或刚性配体,即可合成出具有优秀光电活性的双光子细胞内荧光探针.当配体中引入氟原子或含氟基团后,配体电子密度及整体极性会发生明显变化,导致其光电性能的大幅改变^[8],在生物应用方面,则能提高化合物的脂溶性和渗透性以及生物膜上的溶解性,促进药物在生物体内的吸收与传递速度,使生理作用发生变化^[9].本文合成了一例新型含氟 salophen 配体,进而合成其 Zn 金属配合物,图 1 列出了配体及配合物的合成路线.通过 ^1H NMR、IR、LC-MS 及元素分析对其进行了详细表征,并研究了其紫外—可见光谱特性及荧光光谱特性.

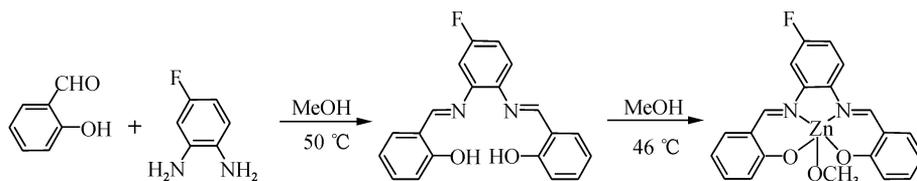


图 1 配体及 Zn(salophen) 配合物合成路线图

Fig.1 The synthetic route of Zn(salophen) complex

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

4-氟-1,2-苯二胺、邻羟基苯甲醛、Zn(AC)₂ 均购于阿达玛斯贝塔(上海)化学试剂有限公司,其余常用试剂均为分析纯.

EQUINOX55 傅立叶红外光谱仪(岛津 IR Prestige-21, 日本),核磁共振波谱仪(Bruker AVANCE 400, 德国),元素分析仪(Elementar Vario EL, 德国),LC-MS(安捷伦,美国),安捷伦紫外—可见光谱仪(Agilent 8453, 美国),荧光分光光度计(PerkinElmer LS 55, 美国)

1.2 实验步骤

1.2.1 Salophen 配体的合成

配体及配合物合成参考支志明课题组报道方法

并进行改进^[10].将原料邻羟基苯甲醛(水杨醛过量) 0.678 mL (6.5 mmol) 与 4-氟-1,2-苯二胺 0.378 g (3 mmol) 溶解于适量甲醇溶剂中,50 °C 回流,磁力搅拌反应 4 h,冷却,抽滤,冷甲醇洗涤数次,干燥.红棕色产品用氯仿重结晶,得红棕色针状晶体 0.87 g,收集备用.产率:78%.配体用 ^1H NMR、红外光谱(IR)和 LC-MS 质谱及元素分析进行表征.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 12.79 (s, 2H), 8.96 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 7.67 (t, J = 8.0, 2H), 7.53 (t, J = 7.2, 1H), 7.40-7.46 (m, 3H), 7.26 (t, J = 8.4, 1H), 6.98 (d, J = 8.4, 2H), 6.96 (d, J = 8.4, 2H). IR (KBr, ν/cm^{-1}): 758.02, 908.47, 1109.07, 1149.57, 1192.01, 1276.88, 1479.40, 1562.34, 1614.42, 3689.83. LC-MS: m/z = 335.1 [$M+H^+$].元素分析: Calcd (%): C, 71.85; H, 4.52;

N, 8.38. Found (%) : C, 71.35; H, 4.86; N, 7.99.

1.2.2 Zn(salophen)配合物的合成

取上一实验合成的 salophen 配体 0.8 g 溶解于 3 mL 氯仿中,再取 0.172 g $Zn(AC)_2$ 溶解在 10 mL 的甲醇中,混合.46 °C 回流 5 h,冷却,减压抽滤,冷乙醇洗涤,得亮黄色固体,真空干燥,得 0.85 g 产品.产率:87%.产物用红外光谱、LC-MS 及元素分析进行表征.

IR(KBr, ν/cm^{-1}) 491.85, 754.17, 852.54, 983.70, 1153.43, 1325.10, 1384.89, 1469.76, 1529.55, 1591.27, 1616.35, 3074.53. LC-MS: $m/z = 429 [M+H^+]$. 元素分析: Calcd (%) : C, 58.83; H, 3.76; N, 6.53. Found (%) : C, 59.26; H, 3.97; N, 6.84.

2 结果分析

2.1 含氟 salophen 配体表征及结果分析

合成配体经过氯仿重结晶之后得到针状橙红色微晶,将该微晶收集,用于进一步表征.通过样品的 1H NMR 表征结果分析,在化学位移为 12.79 处出现典型酚羟基质子峰,在化学位移为 8.96 与 8.92 处为 $HC=N$ 基团上质子峰,苯环上其余质子化学位移均在 6.96~7.67 范围内出现相应单峰、双重峰或三重峰.且所有质子峰积分面积与质子数完全相符.核磁结果说明,所测试样品为预期目标产物.样品的元素分析结果显示, C、H、N 含量均在理论计算允许误差内,表明配体纯度符合实验要求.

在波数为 4 000~400 cm^{-1} 范围内测定了配体的红外光谱(图 2),实验结果显示醛基的 $C=O$ 伸缩振动吸收峰(1658 cm^{-1})消失,氨基 N-H 吸收峰(3 400 cm^{-1})也消失.而 1614 cm^{-1} 处出现吸收峰,为 $-C=N$ -特征吸收峰,1109 cm^{-1} 为 C-F 吸收峰,3 689 cm^{-1} 为典型的 Ar-OH 伸缩振动吸收峰.从红外谱图可以看出,原料特征峰消失,形成 salophen 配体特征吸收峰.进一步表明合成样品为所预期的目标产物.

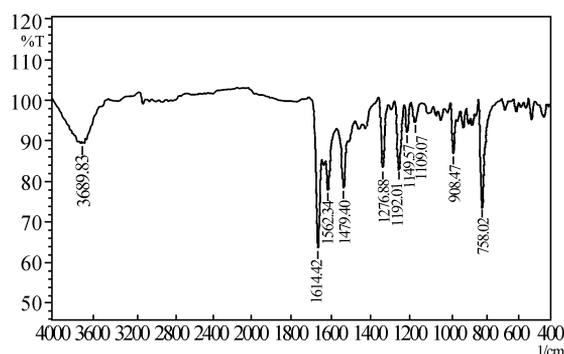


图 2 含氟 salophen 配体红外光谱图
Fig.2 IR spectral of the salophen ligand

所合成样品的 LC-MS 表征结果显示,样品荷质比(M/Z)为 335.1,为样品加 H^+ 的位置峰,质谱结果更明确的显示样品即为所设计的目标产物.

在配体合成过程中,对其合成温度进行了优化,发现适当降低温度,在 50 °C,产品的产率最高.产物通过氯仿重结晶,可得到较纯的针状晶体,合成溶剂选用甲醇比乙醇产率更高.

2.2 Zn(salophen)金属配合物表征及结果分析

Zn(salophen)金属配合物合成通过重结晶进行纯化,样品通过 LC-MS、元素分析进行初步表征.样品的 LC-MS 表征结果显示,在荷质比 $M/Z = 429$ 处出现强峰,这是 Zn(salophen)金属配合物的分子量加氢的位置峰.配合物中 Zn(II)为五配位结构,Zn 金属分别与 salophen 配体中 2 个 N 原子、2 个 O 氧原子及 1 个甲醇氧进行配位,质谱结果显示合成配合物为所预期的目标产物.元素分析结果显示 C、H、N 含量均在理论计算允许误差内,元素分析结果更证明配合物中 Zn(II)金属离子与甲醇中氧原子配位形成五配位结构,也证明了 LC-MS 结果的正确性,且所测样品纯度较高.

用 KBr 压片,在波数为 4 000~400 cm^{-1} 的范围测定了配合物的红外吸收光谱(图 3).结果显示,3 074 cm^{-1} 处出现一强吸收峰,此为配体与 Zn(II)配位烷烃吸收峰,因为氧原子与 Zn 金属离子形成配位键,导致其原子上的电子云密度降低,使得 Ar-O 键中的成键电子更偏向于配位原子,从而导致苯环上 C-O 共价键的键强度降低,其伸缩振动吸收峰低场移动.通常在形成配位键后,配位原子(如 N)电子云密度降低,相应红外伸缩振动吸收峰会向低波移动,但样品的红外结果显示, $-C=N$ -伸缩振动吸收峰出现在 1 616 cm^{-1} ,与配体 $-C=N$ -伸缩振动吸收峰(1 614 cm^{-1})位置类似,我们推测这是由于在 Zn(salophen)配合物中,Zn(II)原子与 salophen 配位后形成五配位结构,配位基团包含两个 Ar-O-与一个 CH_3O^- ,导致 Zn 中心电子云密度增强,进而导致配体与 Zn 配位前后 $-C=N$ -伸缩振动吸收峰几乎没有变化.这些结果都表明我们合成的配合物为目标产物.

salophen 配体有四个配位原子,Zn(II)金属与其配位过程中,结构与溶剂有关,往往与一个溶剂分子配位形成五配位结构^[11].在之前报道的几例晶体结构中已经得到证实,本文中,质谱、元素分析等表征结果显示,Zn(II)金属配合物也形成典型的五配位结构.但是由于其溶解性问题,暂时没有得到其晶体结构.

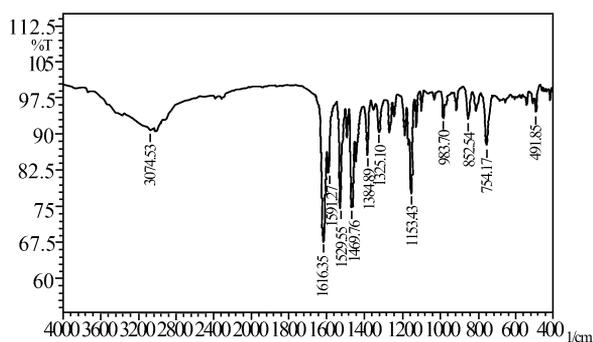


图3 Zn(salophen)金属配合物红外光谱图
Fig.3 IR spectral of the Zn(salophen) complex

2.3 配合物紫外—可见光谱分析

样品的紫外—可见光谱在乙醇或DMSO溶剂中测定(图4)。

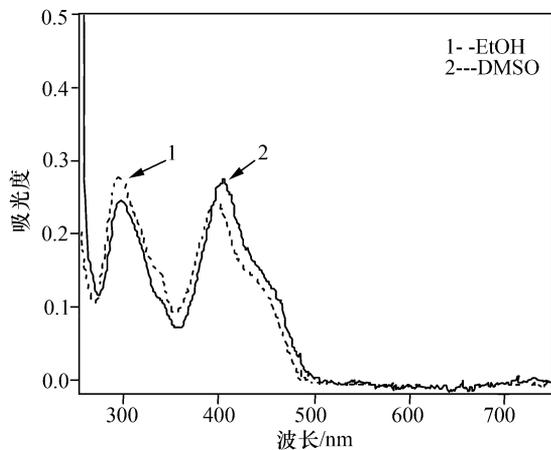


图4 Zn(salophen)配合物在乙醇(1,虚线)与DMSO(2,实线)溶剂中的紫外—可见吸收光谱图
($c = 1 \times 10^{-5}$ mol/L)

Fig.4 Absorption spectra of Zn(salophen) in ethanol solution (1,dashed line) or DMSO solution (2,solid line) at room temperature ($c = 1 \times 10^{-5}$ mol/L)

结果显示,Zn(salophen)金属配合物270-500 nm处出现两个吸收峰,这是由于配体间电子 $\pi-\pi^*$ 跃迁产生的,而这两个吸收峰的出现也与之之前报道^[12]的类似的含salophen配体的Zn(II)配合物的吸收峰位置相似.在乙醇溶剂中,Zn配合物在295 nm,397 nm有最强吸收峰,而在DMSO溶剂中Zn配合物在297 nm,404 nm有最强吸收峰,这可能是因为在极性溶剂中,溶剂极性越大,配合物与溶剂作用越大,激发态越稳定,能量越低,导致吸收峰波长红移。

2.4 配合物荧光光谱分析

为探测配合物荧光性能,对合成Zn(salophen)

配合物进行了荧光测定(图5).在乙醇溶剂中,用397 nm激发,Zn(salophen)配合物在507 nm出现强烈的荧光发射峰.该发射光谱也与之之前Ferran课题组报道的类似Zn(salophen)配合物一致.北京大学张俊龙课题组通过salophen衍生物的Zn配合物的细胞内荧光探针功能进行了深入的研究^[13],并且发现,分子间 $Zn \cdots O$ 作用可以改变配合物聚集状态,进而影响其细胞摄取能力及生物成像功能.本文所合成的Zn(salophen)金属配合物,由于含有氟取代基团,在不改变荧光性能的前提下,增加了其生物相容性,因此,在生物荧光探针方面具有潜在的研究与应用价值。

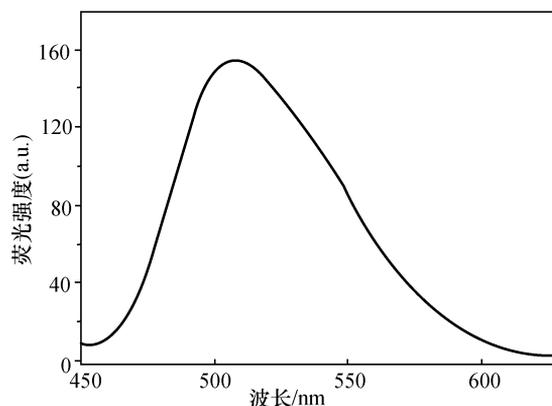


图5 Zn(salophen)金属配合物在乙醇(0.5% DMSO)溶剂中的荧光发射光谱图
($c = 1 \times 10^{-5}$ mol/L)

Fig.5 Emission spectra of Zn(salophen) complex in ethanol solution (0.5% DMSO)

3 结论

本文合成了一例含氟salophen配体,并进一步合成了Zn(II)金属配合物,通过¹H NMR、IR、LC-MS及元素分析分别对配体与Zn(II)金属配合物进行了表征,结果表明,Zn与salophen配体及甲醇分子形成五配位结构,且配合物具有良好的荧光性能,具有作为潜在的细胞内双光子荧光探针的应用价值。

参考文献:

- [1] Tang Y H, Kong X Q, Xu A, et al. Development of a two-photon fluorescent probe for imaging of endogenous formaldehyde in living tissues[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2016, 55(10): 3356-3359.
- [2] Bae S K, Heo C H, Choi D J, et al. A ratiometric two-pho-

- ton fluorescent probe reveals reduction in mitochondrial H₂S production in parkinson's disease gene knockout astrocytes [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(26):9915-9923.
- [3] Yao S, Belfield K D. Two-photon fluorescent probes for bioimaging [J]. *European Journal of Organic Chemistry*, 2012, 2012(17):3199-3217.
- [4] Li G Y, Lin Q, Sun L L, et al. A mitochondrial targeted two-photon iridium (III) phosphorescent probe for selective detection of hypochlorite in live cells and in vivo [J]. *Biomaterials*, 2015, 53:285-295.
- [5] Kim H M, Cho B R. Small-molecule two-photon probes for bioimaging applications [J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(11):5014-5055.
- [6] Chen Y, Guan R L, Zhang C, et al. Two-photon luminescent metal complexes for bioimaging and cancer phototherapy [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2016, 310:16-40.
- [7] Huang Huaiyi, Yang Liang, Zhang Pingyu, et al. Real-time tracking mitochondrial dynamic remodeling with two-photon phosphorescent iridium (III) complexes [J]. *Biomaterials*, 2016, 83:321-331.
- [8] Vent-Schmidt T, Brosi F, Metzger J, et al. Fluorine-rich fluorides; new insights into the chemistry of polyfluoride anions [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(28):8279-8283.
- [9] Gillis E P, Eastman K J, Hill M D, et al. Applications of fluorine in medicinal chemistry [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(21):8315-8359.
- [10] Tong G S, Chow P K, To W P, et al. A theoretical investigation into the luminescent properties of d8-transition-metal complexes with tetradentate schiff base ligands [J]. *Chemistry*, 2014, 20(21):6433-6443.
- [11] Germain M E, Vargo T R, Khalifah P G, et al. Fluorescent detection of nitroaromatics and 2,3-dimethyl-2,3-dinitrobutane (DMNB) by a zinc complex: (salophen)Zn [J]. 2007, 46(11):4422-4429.
- [12] Sabaté F, Giannicchi I G, Acón L, et al. Anion selectivity of Zn-salophen receptors; influence of ligand substituents [J]. *Inorganica Chimica Acta*, 2015, 434:1-6.
- [13] Tang J, Cai Y B, Jing J, et al. Unravelling the correlation between metal induced aggregation and cellular uptake/subcellular localization of Zn salen: an overlooked rule for design of luminescent metal probes [J]. *Chemical Science*, 2015, 6(4):2389-2397.