

以喹啉酮为核心高选择快速检测谷胱甘肽的荧光探针

张成路* 孙越冬 丁言伟 王 静 刘兴兵 王 楠 宋府璐

(辽宁师范大学化学化工学院 辽宁 大连 116029)

摘 要 为了选择性检测小分子生物硫醇,以具有优良荧光性能的喹啉酮为荧光团,依据依布硒啉中 Se—N 键易与硫醇分子反应的性质,将喹啉酮组块(*E*)-3-(5-巯基-1,3,4-噁二唑-2-基)-*N*-(4-甲基-2-氧代-1,2-二氢喹啉-7-基)丙烯酰胺(MQ5)与依布硒啉 2-(4-溴苯基)苯并[d][1,2]硒唑-3(2*H*)-酮(SQ6)对接,设计合成了一种新型荧光探针(*E*)-*N*-(4-甲基-2-氧代-1,2-二氢喹啉-7-基)-3-(5-((4-(3-氧代苯并[d][1,2]硒唑-2(3*H*)-基)苯基)硫基)-1,3,4-噁二唑-2-基)丙烯酰胺(MNQ)。通过傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、核磁共振波谱仪(NMR)和高分辨质谱(HRMS)和荧光光谱等测试手段对其进行了结构表征,探究了其荧光性能。结果表明,MNQ 对谷胱甘肽(GSH)有明显的荧光猝灭,在其他氨基酸等干扰时,探针具有良好的抗干扰能力,可作为识别检测 GSH 的荧光猝灭型探针。检测限为 2.99×10^{-8} mol/L,响应时间在 35 s 可完成,有望作为检测谷胱甘肽的荧光探针。

关键词 喹啉酮;荧光识别;谷胱甘肽;依布硒啉

中图分类号:O657.3

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2020)07-0847-08

DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2020.07.200025

生命体系中的硫醇小分子如半胱氨酸(Cys)、高半胱氨酸(Hcy)和谷胱甘肽(GSH)在氧化还原稳态和细胞生长,甲基转移和辅酶 A 相关的反应等生理过程中具有重要作用^[1]。硫醇分子浓度的异常与一些重要疾病如癌症、艾滋病、老年痴呆症和心血管疾病的形成密切相关^[2-4]。GSH 是细胞内最丰富的生物硫醇之一,其结构中的巯基在含巯基分子和二硫化物二者之间存在着氧化与还原的平衡,由此可参与对细胞的保护和解毒,细胞内的硫醇水平在氧化应激反应中的变化,会对细胞产生氧化还原的调节作用,可作为氧化还原调节剂^[5]。GSH 浓度的变化与包括帕金森病、免疫功能障碍、肝脏疾病和许多类型的癌症有关^[6-7]。快速、灵敏和选择性地检测 GSH 在医学方面具有重要意义。荧光探针被认为是监测细胞内分析物的有效分子工具^[8-9]。迄今为止,已开发出许多识别检测 GSH 的方法,如高效液相色谱法(HPLC)^[10]、毛细管电泳^[11]以及电化学方法^[12]等。这些方法大多都需要复杂且较昂贵的仪器和繁琐的预处理程序,使得在实际使用中具有一定的局限性。在各种检测 GSH 的策略中,荧光探针光学测定法^[13],具有简单便捷、稳定性强和灵敏度高等优点,能够对待测样品进行有效的实时检测,在临床医学、化学、生物学以及环境等领域受到广泛关注^[14-15]。

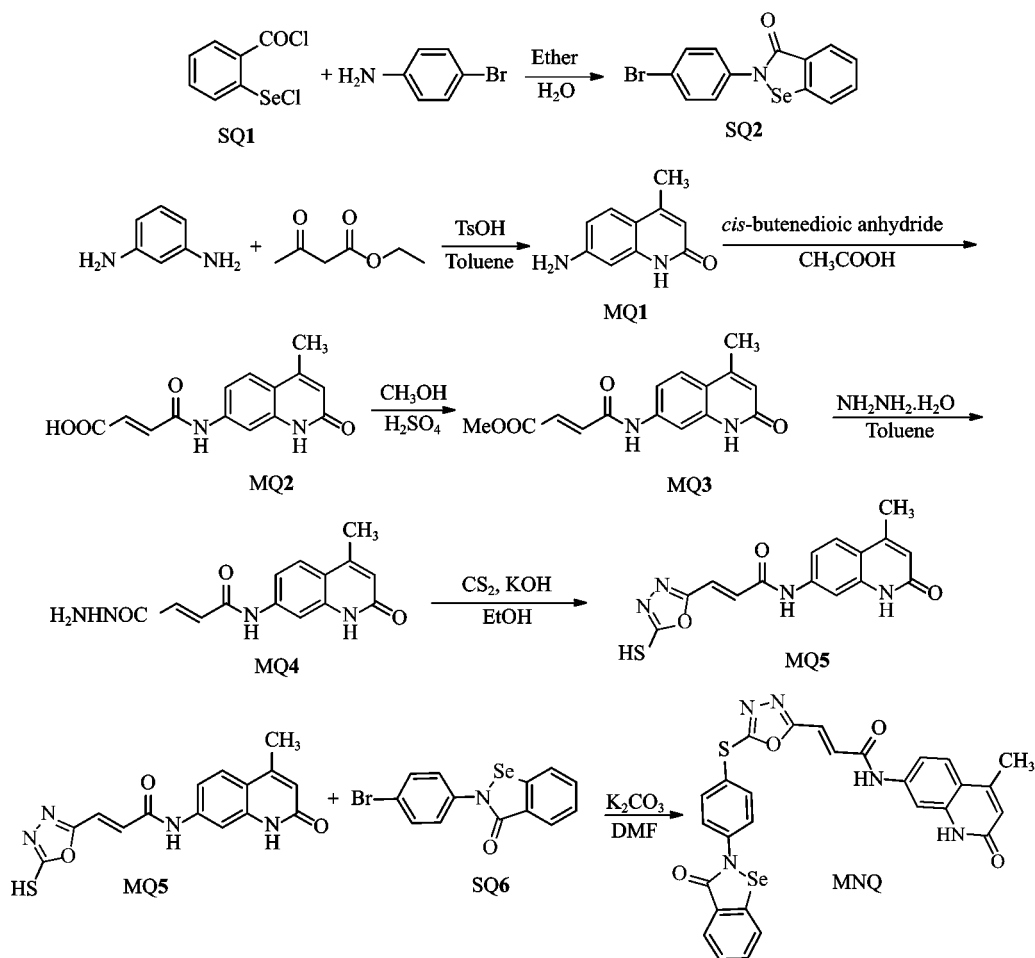
喹啉酮是一种具有高荧光量子产率和高稳定性的荧光团^[16],其衍生物可作为荧光传感器^[17]。喹啉酮类衍生物还具有良好的生物相容性,含有喹啉酮组块的许多类药物也已在临床疾病的预防和治疗中得到应用^[18]。依布硒啉在与巯基反应时,硒杂环结构中 Se—N 键会发生断裂^[19],可应用此性质将其作为荧光分子的反应位点。由于 GSH 具有巯基,通过巯基提供的具有亲核性的 HS⁻,使探针分子中硒氮(—Se—N—)断裂,可导致探针分子结构发生改变,进而产生荧光强度的变化以达到检测目的^[20-22]。因此,若首先将荧光团喹啉酮 MQ1 中 7 号位氨基与顺式马来酸酐进行酰化等多步反应制备得到产物 MQ4,后者经环化引入含巯基的噁二唑衍生物 MQ5,最后与硒啉组块 SQ6 反应,即可将喹啉酮与依布硒啉共筑于同一分子中,该分子有望作为检测生物硫醇的荧光探针。目标分子的合成路线如 Scheme 1 所

2020-01-17 收稿,2020-03-09 修回,2020-03-31 接受

辽宁省教育厅科学技术项目资助(2009A426)

通讯联系人:张成路,教授;Tel:0411-82158329;E-mail:zhangchenglu@lnnu.edu.cn;研究方向:具有生物活性分子和荧光探针的设计与合成

示。



Scheme 1 Synthetic route of target product MNQ

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

半胱氨酸 (Cys)、谷胱甘肽 (GSH)、高半胱氨酸 (Hcy)、丝氨酸 (Ser)、脯氨酸 (Proline)、缬氨酸 (Valine)、谷氨酸 (Glutamic acid)、苯丙氨酸 (Phenylalanine)、丙氨酸 (Alanine)、蛋氨酸 (Methionine)、色氨酸 (Tryptophan)、亮氨酸 (Leucine)、赖氨酸 (Lysine)、酪氨酸 (Tyrosine)、甘氨酸 (Glycine)、间苯二胺和乙酰乙酸乙酯均购于阿拉丁化学试剂公司; 甲苯、对甲苯磺酸、*N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、冰乙酸、甲醇、乙醇、浓盐酸、浓硫酸、水合肼、二硫化碳、氯化亚砷、氢氧化钾均购于天津市科密欧化学试剂有限公司; 甲苯、对溴苯胺购于国药集团化学试剂有限公司。所用试剂均为分析纯。

Avance-500MHz 型核磁共振波谱仪 (NMR, 瑞士 Bruker 公司); F-7000 型荧光光谱仪 (日本日立公司); Agilent 6224 型高分辨质谱仪 (HRMS, 美国 Agilent 公司); TENSOR27 型傅里叶变换红外光谱仪 (FT-IR, 德国 Bruker AXS 公司); WFH-203B 型三用紫外分析仪 (上海精科实业有限公司); X-5 型数字显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); Lambda35 型紫外可见分光光度计 (UV-Vis, 美国珀金埃尔默公司)。

1.2 实验方案

1.2.1 中间体 MQ1 和 MQ2 的合成

中间体化合物 MQ1 和 MQ2 根据文献[23]的方法合成, 产物均为淡黄色固体, 收率分别为 74.8%

和 65.4%, mp 分别为 279.4 ~ 280.2 °C 和 232.7 ~ 233.5 °C。

MQ1 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.07 (s, 1H, Ar—NH), 7.30 (d, J = 8.65 Hz, 1H, PhH), 6.42 (d, J = 8.65 Hz, 1H, PhH), 6.34 (s, 1H, PhH), 5.91 (s, 1H, ArH), 5.68 (s, 2H, —NH₂), 2.25 (s, 3H, CH₃)。

MQ2 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 12.85 (s, 1H, COOH), 11.54 (s, 1H, Ar—NH), 10.57 (s, 1H, NH), 7.84 (d, J = 1.90 Hz, 1H, CH), 7.65 (d, J = 8.70 Hz, 1H, PhH), 7.33 (m, 1H, CH), 6.49 (d, J = 7.55 Hz, 1H, PhH), 6.34 (d, J = 7.00 Hz, 1H, PhH), 6.27 (s, 1H, ArH), 2.37 (s, 3H, CH₃), 所得结果与文献值相符。

1.2.2 中间体 MQ3 的合成

取 2.6 mmol **MQ2** 于 100 mL 烧瓶中, 加入 20 mL 甲醇升温至 68 °C, 缓慢滴加 2 mL 浓硫酸, 继续回流 8 h, TLC 监测反应进程。反应停止后, 冷却至室温, 蒸除溶剂, 用稀 NaHCO₃ 溶液调 pH 至中性, 过滤, 干燥, 得 **MQ3**, 棕黄色固体, 收率 53.2%; mp 175.8 ~ 176.6 °C; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.49 (s, 1H, Ar—NH), 10.50 (s, 1H, NH), 7.80 (d, J = 8.10 Hz, 1H, PhH), 7.63 (d, J = 8.75 Hz, 1H, PhH), 7.30 (d, J = 7.95 Hz, 1H, PhH), 6.53 (d, J = 7.65 Hz, 1H, CH), 6.43 (d, J = 7.05 Hz, 1H, CH), 6.25 (s, 1H, ArH), 3.66 (s, 3H, CH₃), 2.36 (s, 3H, CH₃); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3414, 3060, 2933, 1665, 1611, 1562, 1254, 1105, 783。

1.2.3 中间体 MQ4 的合成

取 1.5 mmol **MQ3** 于三颈瓶中, 加入 15 mL 甲苯搅拌溶解, 逐渐升温至 110 °C, 加入 4 mL 水合肼, 继续回流, TLC 监测反应进程, 补加 2 mL 水合肼。反应结束后, 冷却至室温, 析出固体, 抽滤, 干燥, 得 **MQ4**, 棕黄色固体, 收率 56.3%; mp 229.5 ~ 230.3 °C; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.17 (s, 1H, Ar—NH), 10.76 (s, 1H, NH), 10.12 (s, 1H, NH), 7.82 (d, J = 8.25 Hz, 1H, PhH), 7.45 (d, J = 8.10 Hz, 1H, PhH), 7.34 (d, J = 8.30 Hz, 1H, PhH), 6.35 (d, J = 7.05 Hz, 1H, CH), 6.29 (d, J = 7.10 Hz, 1H, CH), 6.25 (s, 1H, ArH), 4.48 (s, 2H, NH₂), 2.34 (s, 3H, CH₃); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3412, 3025, 2929, 1680, 1618, 1560, 1250, 1124, 857。

1.2.4 中间体 MQ5 的合成

在室温条件下, 取 0.75 mmol KOH 和 0.5 mmol **MQ4** 于三颈瓶中, 加入 30 mL 乙醇, 缓慢滴加 60 μL CS₂, 室温搅拌 6 h。将反应体系转移至油浴中, 回流 8 h, TLC 监测反应进程。反应停止后, 倒入冰水中, 用稀盐酸调节 pH = 4, 抽滤, 干燥, 得 **MQ5**, 棕黄色固体, 收率 61.3%; mp 276.8 ~ 277.5 °C; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 14.27 (s, 1H, SH), 10.43 (s, 1H, Ar—NH), 9.86 (s, 1H, NH), 7.83 (d, J = 8.6 Hz, 2H, PhH), 7.78 (d, J = 8.7 Hz, 1H, PhH), 6.45 (d, J = 7.10 Hz, 1H, CH), 6.38 (d, J = 7.15 Hz, 1H, CH), 6.29 (s, 1H, ArH), 2.43 (s, 3H, CH₃); IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3418, 3030, 2982, 2530, 1675, 1660, 1632, 1250, 1110, 764。

1.2.5 中间体 SQ2 的合成

中间体 **SQ1** 根据文献[24-25]的方法合成, 产物为亮黄色固体, 收率 70.2%, mp 63.7 ~ 64.3 °C, 中间体 **SQ2** 根据文献[26]的方法合成, 产物为白色固体, 收率 76.3%, mp 194.2 ~ 195.1 °C, 所得结果均与文献值相符。

1.2.6 探针 MNQ 的合成

称取 0.41 mmol 的 K₂CO₃ 和 0.3 mmol **MQ5** 置于 100 mL 三颈瓶中, 加入 20 mL DMF 溶解, 再加入 0.3 mmol **SQ2**, 室温搅拌, TLC 监测反应完成后, 抽滤, 滤液倒入冰水中, 过滤干燥, 乙醇重结晶得 **MNQ**, 黄色固体, 收率 53.2%; mp > 300 °C; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.10 (s, 1H, Ar—NH), 10.52 (s, 1H, NH), 8.17 (d, J = 8.55 Hz, 2H, PhH), 7.99 (d, J = 8.65 Hz, 2H, PhH), 7.75 (d, J = 8.45 Hz, 1H, PhH), 7.51 (d, J = 8.75 Hz, 1H, PhH), 7.25 (d, J = 8.40 Hz, 2H, PhH), 7.05 (d, J = 8.70 Hz, 2H, PhH), 6.84 (s, 1H, PhH), 6.51 (d, J = 6.95 Hz, 1H, CH), 6.37 (d, J = 6.90 Hz, 1H, CH), 6.24 (s, 1H, ArH), 2.37 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6), δ : 170.26, 169.46, 164.76, 164.23, 163.89, 162.81,

158.23, 144.02, 132.84, 129.09, 127.56, 126.83, 119.07, 115.34, 20.32; IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3421, 3030, 2937, 1670, 1635, 1442, 1249, 1200, 1101, 831; HRMS (positive-SIMS) m/z (calcd.), $[M + H]^+$: 602.0307, found 602.0314。

1.2.7 溶液配制

为了研究 MNQ 对硫醇小分子的识别性能,首先,将探针 MNQ 溶解在 2 mL 的 DMSO 中,然后将其转移至 100 mL 的容量瓶中,加入二次蒸馏水配制 100 mL 浓度为 2.0×10^{-5} mol/L 的探针 MNQ 测试溶液 (DMSO/ H_2O 体积比为 1:49);其次,称取 0.27 g KH_2PO_4 、1.42 g Na_2HPO_4 、8 g NaCl 和 0.2 g KCl 加入蒸馏水溶解后,用稀盐酸调 $\text{pH} = 7.4$,配制 PBS 缓冲溶液。用 PBS 缓冲溶液分别配制 15 种 $[2.0 \times 10^{-5}$ mol/L, DMSO/PBS ($\text{pH} = 7.4$) 体积比 1:49] 的氨基酸溶液,留置备用。所选用氨基酸为 Cys、GSH、Hcy、Ser、Proline、Valine、Glutamic acid、Phenylalanine、Alanine、Methionine、Tryptophan、Leucine、Lysine、Tyrosine 和 Glycine。

2 结果与讨论

2.1 探针 MNQ 对 GSH 的识别

利用荧光光谱法研究了在荧光探针 MNQ 对不同氨基酸的选择性识别。将 2.0×10^{-5} mol/L 探针 MNQ 测试溶液分别与上述配制的 15 种 2.0×10^{-5} mol/L 的氨基酸溶液等体积均匀混合,室温下静置 2 h,在激发波长 $\lambda = 330$ nm,激发和发射狭缝宽度均为 5 nm 的条件下,测定探针的荧光发射光谱,测试结果如图 1 所示。图 1A 为探针 MNQ 溶液中存在不同金属离子时的荧光发射光谱图,当荧光探针 MNQ 溶液中加入 GSH 后发生显著的荧光猝灭,而在相同条件下加入其它氨基酸时猝灭效果不明显,表明 MNQ 对 GSH 具有高选择性的识别能力。图 1B 为探针 MNQ 溶液中时添加等体积 GSH 溶液的紫外-可见吸收光谱图。可见,探针 GSH 的最大吸收波长为 330 nm,向探针 MNQ 溶液中加入 GSH 时,330 nm 处的吸收峰降低。

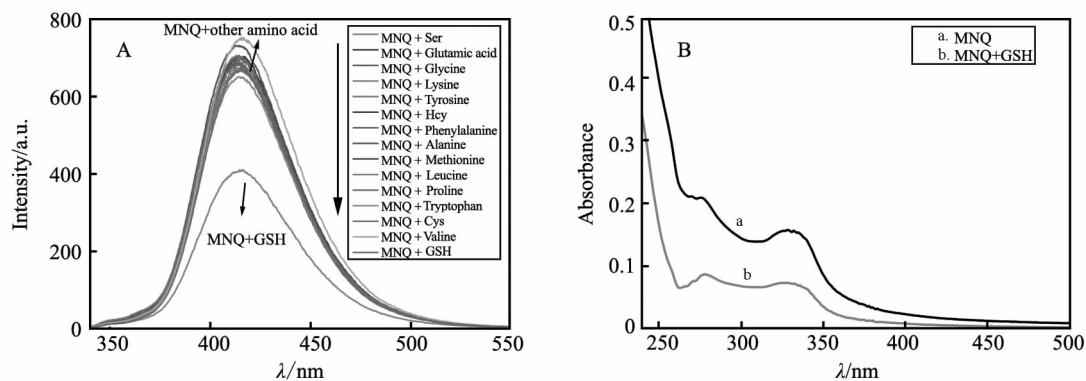


图 1 探针 MNQ 添加不同氨基酸的荧光光谱(A);探针 MNQ 添加 1 倍化学计量 GSH 的 UV-Vis 谱图(B)

Fig.1 Fluorescence spectra for probe MNQ with addition of different amino acids (A); UV-Vis spectra of probe MNQ with 1 stoichiometry of GSH (B)

2.2 荧光滴定

为了进一步研究荧光探针 MNQ 对 GSH 的识别能力,在探针 (2.0×10^{-5} mol/L) 溶液中加入不同浓度 GSH 的荧光滴定实验,如图 2A 所示。结果发现,随着 GSH 的浓度逐渐增加荧光强度逐渐减弱,当 GSH 的浓度为探针浓度的 2.2 倍化学计量时荧光猝灭程度不再变化,此时体系已达到饱和状态。根据检测限公式 $\text{detection limit} = 3\sigma/k^{[27]}$ (式中, σ 为空白样的标准偏差即探针在加入检测离子前荧光强度的标准偏差, k 为荧光滴定过程中的峰值和相应金属离子浓度作直线的斜率),经扫 10 次空白样,得出 σ 为 2, MNQ 对 GSH 的检测限为 2.99×10^{-8} mol/L,根据图 2B 可得,相关系数 R^2 值为 0.99,表明 MNQ 可作为识别检测 GSH 的荧光探针。

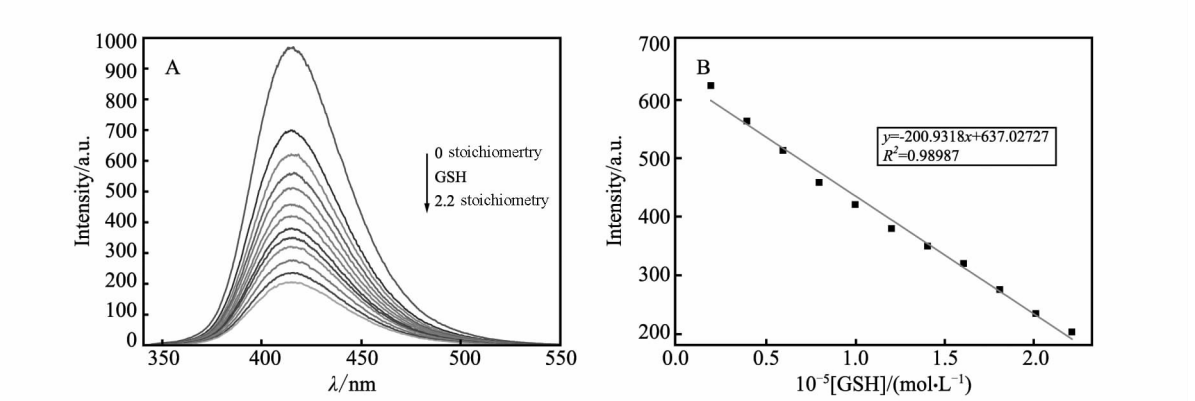


图2 探针 MNQ 添加 0 ~2.2 倍化学计量 GSH 的荧光滴定曲线(A);探针 MNQ 溶液中加入 GSH 的线性关系(B)
Fig.2 Fluorescence titration curves of probe MNQwith addition of GSH from 0 to 2.2 stoichiometry(A) and the linear relation of adding GSH into probe MNQ(B)

2.3 干扰实验研究

为探究当其它氨基酸存在时探针对 GSH 识别检测的影响,进行了干扰实验,结果如图 3 所示。结果发现在 $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 探针 MNQ 测试溶液中加入其它氨基酸时,荧光猝灭程度无明显变化,但继续向其中加入 GSH 的溶液后,均发生明显猝灭,表明其它干扰氨基酸存在时,探针对 GSH 的识别检测无影响,探针对 GSH 的检测与识别具有较强的抗干扰能力。

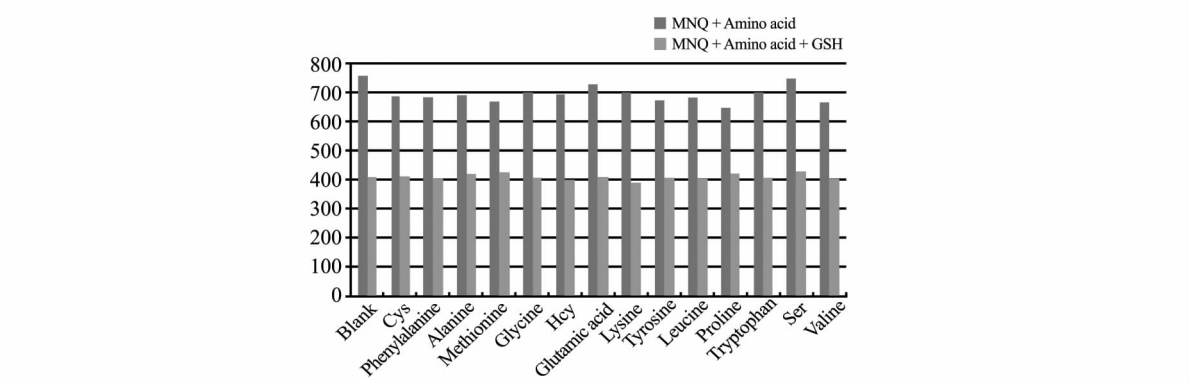


图3 探针 MNQ 与不同种氨基酸同时存在时与 GSH 结合的荧光强度柱状图
Fig.3 Histogram of the fluorescence intensity of the probe MNQ combined with GSH in the presence of different amino acids

2.4 时间响应研究

为了探究探针 MNQ 能否快速识别检测 GSH,通过荧光光谱研究了荧光探针 MNQ 对 GSH 的响应时

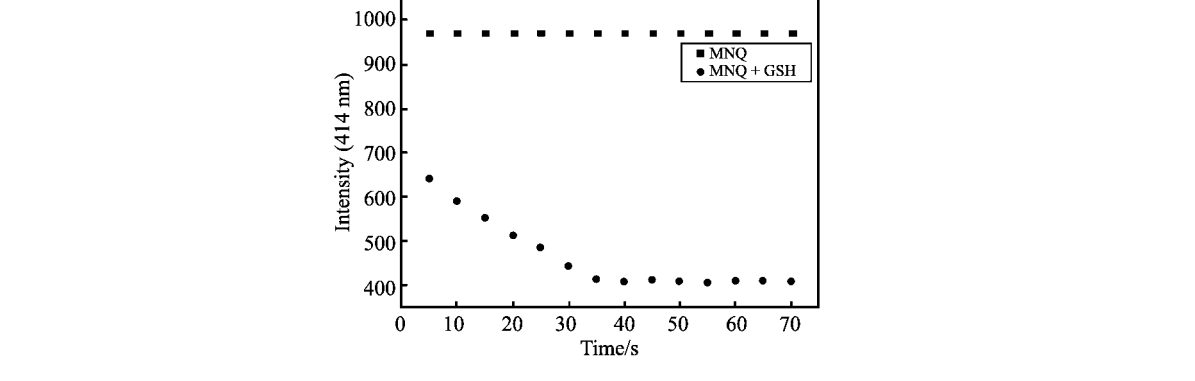


图4 MNQ 荧光光谱对 GSH 的时间响应
Fig.4 Effect of time on the fluorescence response of probe MNQ to GSH

间,如图 4 所示,荧光探针 MNQ 的荧光强度不受时间影响,当 GSH 加入至荧光探针 MNQ 中,体系均在 35 s 内荧光强度逐渐减弱,35 s 后荧光强度趋于平稳。

2.5 反应机理研究

由于巯基具有将依布硒啉环中的 Se—N 键断裂的特性^[28],GSH 分子中含有较活泼的巯基,推测当探针溶液中加入 GSH 时,GSH 分子中的一SH 与探针 MNQ 分子中的硒唑环反应,使 Se—N 键断裂,破坏了原有的荧光结构,结果发生荧光猝灭,实现了识别检测 GSH 的目的。推测应机理如图 5 所示。

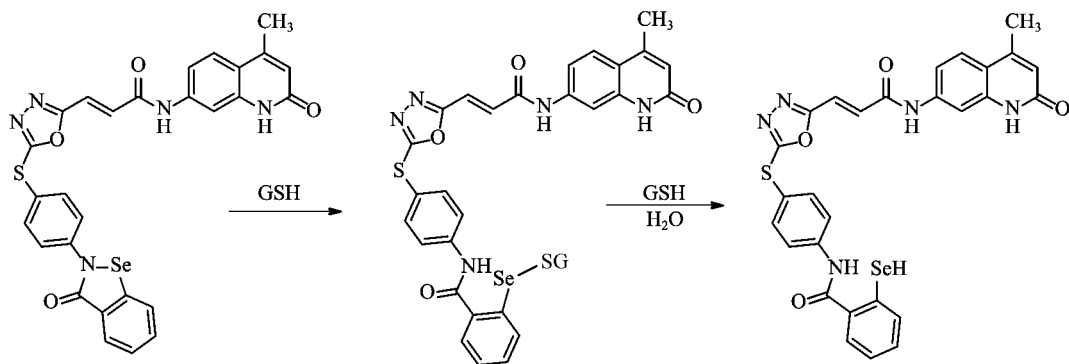


图 5 探针 MNQ 与 GSH 的结合机理

Fig. 5 Binding mechanism of probe MNQ and GSH

3 结 论

设计合成了一种新型含喹啉酮荧光探针 MNQ,研究了 MNQ 对硫醇小分子的荧光识别性能。结果发现相比于其它 14 种氨基酸,荧光探针 MNQ 对 GSH 具有高选择性,检测限为 2.99×10^{-8} mol/L,检测迅速,抗干扰能力强,达到了预期研究的目的,MNQ 有望作为识别检测 GSH 的荧光猝灭型探针。

参 考 文 献

- [1] Liu Y, Lv X, Liu J, *et al.* Construction of a Selective Fluorescent Probe for GSH Based on a Chloro-Functionalized Coumarin-enone Dye Platform[J]. *Chem-Eur J*, 2015, **21**(12):4747-4754.
- [2] Zhang S, Ong C N, Shen H M. Critical Roles of Intracellular Thiols and Calcium in Parthenolide-Induced Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells[J]. *Cancer Lett*, 2004, **208**(2):0-153.
- [3] Kristine S J, Rosa E H, Jakob R W. Kinetic and Thermodynamic Aspects of Cellular Thiol Disulfide Redox Regulation[J]. *Antioxid Redox Sign*, 2009, **11**(5):1047-1058.
- [4] Tang B, Yin L, Wang X, *et al.* A Fast-Response, Highly Sensitive and Specific Organoselenium Fluorescent Probe For Thiols and Its Application in Bioimaging[J]. *Chem Commun*, 2009, **35**:5293-5295.
- [5] Ng C F, Schafer F Q, Buettner G R, *et al.* The Rate of Cellular Hydrogen Peroxide Removal Shows Dependency on GSH: Mathematical Insight into *in Vivo* H_2O_2 and GPx Concentrations[J]. *Free Radical Res Commun*, 2007, **41**(11):1201-1211.
- [6] Anna S C, Sandra G F, Hans S, *et al.* A Standardized Protocol for Comparable Analysis of GSH/GSSG by UHPLC-ESI-MS/MS for Human Plasma[J]. *J Chromatogr B*, 2019, **1104**:67-72.
- [7] Song Y L, Li J, Zhou X, *et al.* Recent Progress on the Development of Glutathione (GSH) Selective Fluorescent and Colorimetric Probes[J]. *Coordin Chem Rev*, 2018, **366**:29-68.
- [8] Hong J A, Kim M J, Eo J, *et al.* A Turn-On Fluorescent Probe for Live-Cell Imaging of Biothiols[J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2018, **39**(4):425-426.
- [9] Jennifer K N, Prithy R, Toshiro M, *et al.* *In Vitro* and *ex Vivo* Uptake of Glutathione(GSH) Across the Intestinal Epithelium and Fate of Oral GSH after *in Vivo* Supplementation[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, **62**(39):9499-9506.
- [10] Ivanov A R, Nazimov I V, Baratova L A. Qualitative and Quantitative Determination of Biologically Active Low-Molecular-Mass Thiols in Human Blood by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography with Photometry and Fluorescence Detection[J]. *J Chromatogr A*, 2000, **895**(1):167-171.

- [11] Chen G, Zhang L, Wang J. Miniaturized Capillary Electrophoresis System with a Carbon Nanotube Microelectrode for Rapid Separation and Detection of Thiols[J]. *Talanta*, 2004, **64**(4):1018-1023.
- [12] Narang J, Chauhan N, Jain P, *et al.* Silver Nanoparticles/Multiwalled Carbon Nanotube/Polyaniline Film for Amperometric Glutathione Biosensor[J]. *Int J Biolog Macromol*, 2012, **50**(3):672-678.
- [13] Yoshida M, Kamiya M, Yamasoba T, *et al.* A Highly Sensitive, Cell-Membrane-Permeable Fluorescent Probe for Glutathione[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(18):4363-4366.
- [14] Jhong Y, Hsieh W H, Chir J L, *et al.* A Highly Selective and Turn-on Fluorescence Sensor for Detection of Cyanide[J]. *J Fluoresc*, 2014, **24**(6):1723-1726.
- [15] Liu X, Li T, Wu Q, *et al.* Carbon Nanodots as a Fluorescence Sensor for Rapid and Sensitive Detection of Cr(VI) and Their Multifunctional Applications[J]. *Talanta*, 2017, **165**:216-222.
- [16] Zheng S L, Liu J W, Wu Y Y, *et al.* Small-Molecule Inhibitors of Wnt Signaling Pathway: Towards Novel Anticancer Therapeutics[J]. *Future Med Chem*, 2015, **7**(18):2485-2505.
- [17] Wang H Z, Xiao M J, Zhang J Q, *et al.* Studies on the Synthesis and Properties of Quinolinone-Based Fluorescent Probe[J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni*, 2014, **53**(2):94-100.
- [18] Wu L J, Yang Y, Song R J, *et al.* An Access to 1,3-Azasiline-Fused Quinolinones *via* Oxidative Heteroannulation Involving Silyl C(sp³)—H Functionalization[J]. *Chem Commun*, 2018, **54**(21):1367-1370.
- [19] Gao Z, Han B, Chen K, *et al.* A Novel Single-Fluorophore-Based Ratiometric Fluorescent Probe for Direct Detection of Isocyanates in Air[J]. *Chem Commun*, 2017, **53**(46):6231-6234.
- [20] Pires M M, Chmielewski J. Fluorescence Imaging of Cellular Glutathione Using a Latent Rhodamine[J]. *Org Lett*, 2008, **10**(5):837-840.
- [21] Lee J H, Lim C S, Tian Y S, *et al.* A Two-Photon Fluorescent Probe for Thiols in Live Cells and Tissues[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, **132**(4):1216-1217.
- [22] LIU Yawei. Construction of Carbon Heterobonds and Their Application in the Synthesis of Sulfide and Quinazoline Derivatives[D]. Zhengzhou: Henan University, 2018 (in Chinese).
刘亚威. 碳杂键的构建及其在硫醚和喹唑啉衍生物合成中的应用[D]. 郑州: 河南大学, 2018.
- [23] WANG Huizhen. Synthesis and Properties of Quinolinone Fluorescent Probes. Mianyang [D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology, 2014 (in Chinese).
王会镇. 喹啉酮荧光探针的合成及性能研究[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2014.
- [24] YAN Xueming, ZHANG Hongying, ZENG Xiong. Study on Synthesis of Novel Ebselen Analogs[J]. *J Univ South China (Sci Technol)*, 2006, **20**(3):88-90 (in Chinese).
颜雪明, 张红英, 曾雄. 新型 Ebselen 类似物的合成研究[J]. 南华大学学报(自然科学版), 2006, **20**(3):88-90.
- [25] YAN Xueming, LU Zhiqiang, YANG Pengfei. Study on the Synthesis of 2-Phenyl-1,2-Benzoisoselazol-3-(2H)-one[J]. *Fine Chem Intermed*, 2005, **35**(4):22-27 (in Chinese).
颜雪明, 卢志强, 阳鹏飞. 2-苯基-1,2-苯并异噻唑-3-(2H)-酮的合成研究[J]. 精细化工中间体, 2005, **35**(4):22-27.
- [26] Krishna P B, Govindasamy M. Synthesis, Characterization, and Antioxidant Activity of Some Ebselen Analogues[J]. *Chem-Eur J*, 2007, **13**:4594-4601.
- [27] Samanta S, Goswami S, Ramesh A, *et al.* A New Fluorogenic Probe for Solution and Intra-Cellular Sensing of Trivalent Cations in Model Human Cells[J]. *Sens Actuators B*, 2014, **194**:120-126.
- [28] Muges G, Sarma B K. Glutathione Peroxidase (GPx)-like Antioxidant Activity of the Organoselenium Drug Ebselen: Unexpected Complications with Thiol Exchange Reactions[J]. *J Am Chem Soc*, 2005, **127**(32):11477-11485.

A Quinolinone-Based Fluorescent Probe for Rapid and Highly Selective Detection of Glutathione

ZHANG Chenglu*, SUN Yuedong, DING Yanwei, WANG Jing, LIU Xingbing, WANG Nan, SONG Fulu
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China)

Abstract In order to recognize small-molecule biothiols selectively, quinolinone was used as a fluorophore.

Since thiol molecules can easily break the Se—N bond, a new fluorescent probe (*E*)-*N*-(4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-7-yl)-3-(5-(4-(3-oxobenzo[*d*][1,2]selenazol-2(3*H*)-yl)phenyl)thio)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)acrylamide (MNQ) was designed and synthesized by splicing quinolinone (*E*)-3-(5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-*N*-(4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-7-yl)acrylamide (MQ5) with ebselen 2-(4-bromophenyl)benzo[*d*][1,2]selenazol-3(2*H*)-one (SQ6). The structure was characterized by infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) and high-resolution mass spectrometry (HRMS), and its fluorescence properties were explored by fluorescence spectroscopy. The result shows that MNQ has obvious fluorescence quenching ability for glutathione (GSH). When other amino acids exist, the probe has good anti-interference ability, and can be used as a fluorescence quenching probe for identifying and detecting GSH. The detection limit is 2.99×10^{-7} mol/L, and the response time can be as low as 35 s. It has potential application as a fluorescent probe for detecting GSH.

Keywords quinolinone; fluorescence recognition; glutathione; ebselen

《应用化学》2020 年征订启事

《应用化学》创刊于 1983 年,是经国家科委批准向国内、国外公开发行的学术性期刊。由中国科学院主管,中国科学院长春应用化学研究所和中国化学会主办,科学出版社出版。为中国科技核心期刊。

《应用化学》设有综合评述、研究论文、研究简报栏目。出版周期短,报道新成果快。

《应用化学》期刊被 14 家国内外重要检索机构、文摘收录。

《应用化学》面向科研单位、大专院校和化学化工领域的科研技术人员。

《应用化学》投稿全部采用网上投稿方式(<http://yyhx.ciac.jl.cn> 点击“网上投稿”或“投稿注册”,按照提示步骤操作)。

- 中国科学院主管,中国科学院长春应用化学研究所和中国化学会主办。
- 多次获国家、省、部级奖励,发行量大,广告宣传效果好。
- 国内外公开发行,月刊,每月 10 日出版。
- 国内统一刊号 CN 22-1128/O6; 国际标准刊号 ISSN 1000-0518。
- 全国各地邮局订阅,国内邮发代号 8-184; 每册定价 45.00 元,全年定价 540 元
- 中国国际图书贸易总公司办理国外订阅(国外发行代号 M809)
- 如未能在邮局订阅,可与编辑部联系订阅。

《应用化学》编辑部地址:吉林省长春市人民大街 5625 号 邮编:130022

电话:0431-85262016,85262330; 传真:0431-85685653; E-mail:yyhx@ciac.ac.cn; 网址:<http://yyhx.ciac.jl.cn>