N-错位卟啉的合成及对糖类分子的作用研究

穆应红,李万红,易家行,陈雨晴,彭素红*

(宜春学院化学与生物工程学院,江西 宜春 336000)

摘要:分子识别在生物化学领域扮演着重要角色。采用吡咯和 4-甲酰基苯甲酸甲酯等为原料两步法合成四(4-羧酸苯基)N-错位卟啉(NCTCPP),通过紫外-可见吸收光谱探究 NCTCPP 对 4 种糖类化合物(麦芽糖、葡萄糖、乳糖、蔗糖)的选择性识别作用。实验结果表明,麦芽糖的加入使特征吸收峰的吸光度明显增大,而其他糖与 NCTCPP 作用后的紫外-可见吸收光谱无明显变化。NCTCPP 对麦芽糖分子具有良好的选择性识别作用,且在反应时间为 1 min、反应温度为 35 ℃ 时主客体间作用最佳,识别麦芽糖的浓度范围>1.9×10⁻³ mol/L。NCTCPP 与麦芽糖通过氢键形成 1:1的配合物,结合常数为 1.41×10² L/mol。

关键词:N-错位卟啉;糖类化合物;麦芽糖;紫外-可见吸收光谱;选择性识别 中图分类号:065 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2024)08-0107-06 DOI:10.13822/j.enki.hxsj.2024.0048

Synthesis of N-confused Porphyrin and Study of the Molecular Recognition with Sugar *MU* Ying-hong, *LI* Wan-hong, *YI* Jia-hang, *CHEN* Yu-qing, *PENG* Su-hong^{*} (College of Chemsitry and Bioengineering, Yichun University, Yichun 336000, China) Abstract: Molecular recognition plays an important role in the biochemical field. Tetra (4-carboxyphenyl) N-confused porphyrin (NCTCPP) was synthesized by two-step method using pyrrole and methyl 4-formylbenzoate as raw materials. The selective recognition effect of NCTCPP on four carbohydrate compounds (maltose, glucose, lactose, sucrose) was explored by UV-Vis absorption spectroscopy. The experimental results showed that the addition of maltose significantly increased the absorbance of the characteristic absorption peak, while the UV-visible absorption spectra of other sugars and NCTCPP had no obvious change. NCTCPP has a good selective recognition effect on maltose molecules. The interaction between host and guest was best when the reaction time was 1 min and the reaction temperature was 35 °C. The concentration range of maltose was >1.9×10⁻³ mol/L. The NCTCPP formed 1:1 stable complex with maltose by hydrogen bond. The complex constant was 1.41×10² L/mol. **Key words**; N-confused porphyrin; carbohydrate compounds; maltose; UV-Vis absorption spectroscopy; selective identification

卟啉作为光敏剂的方法成为了治疗癌症的有 效手段,卟啉独特的电子吸收和荧光吸收有助于 确定患者体内肿瘤的位置,可作为光动力治疗 (PDT)癌症的光敏剂^[14]。N-错位卟啉是卟啉的 同分异构体,但它们之间的物理性质和化学性质 有着显著的区别^[5,6]。N-错位卟啉是具备 18 个π 电子共轭结构的环状化合物,该结构早于 19 世纪 40 年代便为 Linus Carl Pauling 所预测^[7]。该结 构中存在一个向外翻转的吡咯环,对称性更低、反 应活性更高,并且具有独特的互变异构性^[8],因 此 N-错位卟啉成为了研究热点,它在光催化、材 料、电化学传感器、生物化学、医药学类都有广泛 的应用前景^[9]。

分子识别是指受体(主体)和底物(客体)间 的选择性结合并产生特定功能的过程,是生物及 化学领域中常见的现象^[10,11]。糖类作为广泛分 布于自然界的一类重要有机化合物,在生命活动 的过程中具有重大意义,其对细胞起着特殊的识 别作用,具有信号功能。

近年来,随着糖化学的发展,卟啉对糖类分子 的选择性识别研究逐渐引人注目,并已取得一定

收稿日期:2024-01-19;网络首发日期:2024-05-15

基金项目: 宜春学院 2018 地方发展研究中心项目 (DF2018021); 江西省教育厅科学技术项目(GJJ2201723, GJJ2201724); 江西省卫生健康委科技计划项目 (202212701); 绿色化工技术福建省高校重点实验室开放 基金项目(WYKF-GCT2022-1)。

作者简介:穆应红(1998-),男,重庆人,硕士生,主要研究方 向为卟啉类化合物的合成与应用。

通讯作者:彭素红, E-mail: shpeng1987@163.com。

引用本文:穆应红,李万红,易家行,等.N-错位卟啉的合成 及对糖类分子的作用研究[J].化学试剂,2024,46(8):107-112。 成果。目前,已研究发现磺酸基卟啉、含硼卟啉等 对糖类化合物具有高选择性识别功能^[10,11]。关 于 N-错位卟啉对糖分子的识别作用研究目前尚 未见报道。

基于此,本文采用两步法合成目标化合物四 (4-羧酸苯基)N-错位卟啉(NCTCPP)并研究了 NCTCPP 与糖类分子相互作用。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

T6新世纪型紫外-可见分光光度仪(北京普 析通用仪器有限责任公司);85-2型磁力搅拌器、 YRE-2000E型旋转蒸发器、CCA-20型低温冷却 水循环泵、SHZ-DIII型予华牌循环水真空泵(巩义 市予华仪器有限责任公司);10 mm型熔融石英 荧光带塞比色皿(宜兴市晔辉玻璃仪器厂);100~ 1 000 μL型微量移液器(上海力辰邦西仪器科技 有限公司);DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱 (上海鸿都电子科技有限公司);MS/LC型液相质 谱联用仪(安捷伦科技(中国)有限公司); 400 MHz 核磁共振波谱仪(美国布鲁克科技有限 公司)。

二氯甲烷、正己烷(分析纯,天津市永大化学 试剂有限公司);甲烷磺酸(98%,成都艾科达化 学试剂有限公司);吡咯、三乙胺(分析纯,国药集 团化学试剂有限公司);4-甲酰基苯甲酸甲酯、 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ)(98%,上 海思域化工科技有限公司);甲醇(分析纯,西陇 科学股份有限公司);四氢呋喃、氨水、氢氧化钾、 氢氧化钠(分析纯,天津市致远化学试剂有限公 司);麦芽糖、葡萄糖、乳糖、蔗糖(分析纯,上海源 叶生物科技有限公司);磷酸一氢钠(Na₂HPO₄)、 磷酸二氢钠(NaH₂PO₄)(分析纯,上海阿拉丁生 化科技股份有限公司)。

1.2 合成方法

1.2.1 四(4-甲氧羰基苯基)N-错位卟啉 (NCTMCPP)的合成

取1000 mL 圆底烧瓶,往其中加入500 mL 二氯甲烷溶剂、350 μL(5 mmol,0.335 g)吡咯和 0.83 g(5 mmol)4-甲酰基苯甲酸甲酯,磁力搅拌 下加入225 μL(3.5 mmol,0.335 g)甲烷磺酸,室 温反应30 min。反应结束后,加入1950 μL (14 mmol,1.415 g)三乙胺与1.135 g(5 mmol) DDQ,室温条件下搅拌1h后终止反应^[12],合成 路线如图 1 所示。反应结束,蒸出溶剂,碱性三氧 化二铝层析柱分离^[13],再经重结晶得到紫色固体 四(4-甲氧羰基苯基)N-错位卟啉(NCTMCPP), 收率 26%。NCTMCPP 的核磁共振氢谱如图 2 所 示。¹HNMR(CDCl₃,400 MHz), δ : 8. 98(d,1H, 4. 0 Hz); 8. 92(d,1H,4. 0 Hz); 8. 75(s,1H); 8. 60 (d,1H,4.0 Hz); 8. 56~8. 38(m,12H); 8. 26~ 8. 23(m,3H); 4. 13~4. 10(m,12H); -2. 50(brs, 2H); -4. 89(s,1H)。HR-MS(CH₃OH), C₅₂H₃₈N₄O₈, 实测值(计算值), *m/z*: 847. 280 8(846. 270 0) [M+H]⁺。UV-Vis(CH₂Cl₂), λ /nm: 449, 548, 582,732。



图 1 NCTMCPP 的合成路线 Fig.1 Synthesis route of NCTMCPP



图 2 NCTMCPP(CDCl₃)的核磁共振氢谱 Fig.2 ¹HNMR of NCTMCPP(CDCl₃)

1.2.2 四(4-羧酸苯基)N-错位卟啉(NCTCPP)的合成

取 6.2 mg NCTMCPP 于干燥的 50 mL 圆底烧 瓶中,加入 500 µL(0.82 mol/L) KOH 溶液,1 240 µL (V(四氢呋喃) :V(甲醇) = 1:1)溶解,开动磁力搅 拌,80 ℃回流反应,反应 24 h 结束后,旋干溶剂, 加水分层,用浓盐酸酸化至 pH 3,并用水和少量 的二氯甲烷冲洗固体,合成路线如图 3 所示,真空 干燥得到深墨绿色固体四(4-羧酸苯基)N-错位卟 啉(NCTCPP)^[14],收率 94%。NCTCPP(DMSO d_6)的核磁共振氢谱如图 4 所示。¹HNMR (DMSO- d_6 ,100 MHz), δ :13.12(s,4H);8.32(s, 1H);8.30(s,1H);8.29(s,1H);8.27~8.26(m, 4H);8.24(s,2H);8.09~8.01(m,12H);7.95(d, 1H,4.0 Hz);7.62~7.60(m,2H);2.09(s,1H); 0.48(s,1H)。HR-MS(CH₃OH),C₄₈H₃₀N₄O₈,实 测值(计算值),m/z:791.249 8(790.210 0)[M+ H]⁺。UV-Vis(CH₃OH), λ /nm:326,448,736。



图 3 NCTCPP 的合成路线





图 4 NCTCPP(DMSO-*d*₆)的核磁共振氢谱 **Fig.4** ¹HNMR of NCTCPP(DMSO-*d*₆)

1.3 NCTCPP 对糖类分子的选择性识别

1.3.1 溶液配制

配制 NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ 缓冲溶液(pH 7.0)^[10]。将 NCTCPP 用缓冲溶液配制成浓度为 1.0×10⁻¹ mol/L 储备液,用于稀释。4 种糖类化 合物(麦芽糖、葡萄糖、乳糖、蔗糖)用缓冲溶液配 制成浓度为 5.0×10⁻¹ mol/L 备用。

1.3.2 紫外吸收光谱测定 NCTCPP 对 4 种糖类 分子的识别作用

移取 2 mL(1.0×10⁻⁴ mol/L)NCTCPP 于 1 cm 比色皿中,分别加入 500 μL(1.0×10⁻¹ mol/L)4 种不同的糖溶液、缓冲溶液少许,室温下充分混合 后静置 5 min。以缓冲溶液为参比,扫描 NCTCPP 在常温下与不同糖相互作用后的溶液的紫外-可 见吸收光谱,扫描范围为 300~900 nm。

1.3.3 NCTCPP 对麦芽糖的选择性识别的影响 因素探究

1.3.3.1 反应时间的影响

根据 1.3.2 的实验结果,参照上述实验步骤, 在比色皿中依次加入 2 mL(1.0×10⁻⁴ mol/L)稀释 后的 NCTCPP、1 mL 缓冲溶液、500 μL 麦芽糖溶 液,室温下充分混合并静置不同时间(0、1、2、3、 4、5 min),分别扫描其紫外-可见吸收光谱(以缓 冲溶液为参比),观察紫外吸收光谱随反应时间 的变化情况。

1.3.3.2 反应温度的影响

根据 1.3.2 的实验结果,参照上述实验步骤, 在比色皿中依次加入 2 mL(1.0×10⁻⁴ mol/L)稀释 后的 NCTCPP、1 mL 缓冲溶液、500 μL 麦芽糖溶 液,该混合液分别在 20、25、30、35、40 ℃下静置 1 min,分别扫描其紫外-可见吸收光谱(以缓冲溶 液为参比),观察紫外吸收光谱随反应温度的变 化情况。

1.3.3.3 麦芽糖浓度的影响

根据 1.3.2 的实验结果,参照上述实验步骤, 在比色皿中依次加入 2 mL(1.0×10⁻⁴ mol/L)稀释 后的 NCTCPP、1 mL 缓冲溶液,并加入不同剂量 的麦芽糖,调节麦芽糖的浓度分别为 3.0×10⁻⁴、 7.0×10⁻⁴、9.0×10⁻⁴、1.9×10⁻³、3.9×10⁻³、5.9× 10⁻³ mol/L,置于室温下充分混合并静置 1 min。 以缓冲溶液为参比,扫描 NCTCPP 与不同浓度的 麦芽糖作用的紫外-可见吸收光谱,观察紫外吸收 光谱随麦芽糖浓度的变化情况。

2 结果与讨论

2.1 NCTMCPP 和 NCTCPP 的紫外-可见吸收光谱

紫外-可见吸收光谱是由于分子(或离子)吸收紫外光或可见光后发生价电子的跃迁所引起的,其对于有机化合物的分析与鉴定具有重要作用。图5、图6分别为NCTMCPP(溶于 DCM、DMF



图 5 NCTMCPP 的紫外-可见吸收光谱 Fig.5 UV-Visible absorption spectra of NCTMCPP



图 6 NCTCPP 的紫外-可见吸收光谱 Fig.6 UV-Visible absorption spectra of NCTCPP

中)和 NCTCPP(溶于缓冲溶液、DMF 中)的紫外-可见吸收光谱。

由 NCTMCPP 在 DCM 与 DMF 中紫外-可见 吸收光谱图(图 5)中 Soret 带都存在特征吸收峰 呈现出 N-错位卟啉类化合物的特征吸收光谱; NCTMCPP 在 DMF 溶剂中可观察到 N 带吸收峰 的存在。这主要归因于 N-错位卟啉环外的 N—H 与 DMF 等极性溶剂间形成氢键,以 isomer B (图 7)形式存在。而 N-错位卟啉溶于 DCM 等非 极性溶剂时以 isomer A(图 7)形式存在;于 500~ 750 nm 处的 Q 带均存在吸收峰。



a.isomer A;b.isomer B 图 7 N-错位卟啉互变异构体的分子结构 Fig.7 Molecular structure of N-confused porphyrin tautomers

由 NCTCPP 的谱图(图 6)可知, Soret 带都存 在特征吸收峰,符合 N-错位卟啉类化合物光谱特 征; NCTCPP 溶于缓冲溶液与 DMF 中, N 带都存 在吸收峰,两种溶剂均为极性溶剂,推测 NCTCPP 与 DMF 或缓冲溶液之间形成氢键,主要以 isomer B(图 7b)形式存在。由谱图还可以看出在 DMF 中 500~750 nm 处的 Q 带存在两个吸收峰,而在缓 冲溶液中 Q 带吸收峰变宽且发生红移,表明溶剂 对 NCTCPP 的紫外-可见吸收光谱性质影响很大。

2.2 NCTCPP 对糖类分子的作用研究

2.2.1 NCTCPP 对 4 种糖类分子的作用研究

采用紫外-可见吸收光谱法测定 N-错位卟啉 与4种糖类分子(麦芽糖、葡萄糖、乳糖、蔗糖)的 识别作用,所得谱图如图8所示。







由图 8 可知,N-错位卟啉同麦芽糖作用后,其 紫外-可见吸收光谱图的吸光度明显提高,在 428 nm 附近(Soret 带)的吸光度从 N-错位卟啉本 身的 0.7 左右骤增至 1.5 左右,增大到原来的 2 倍。而其他糖类化合物同 NCTCPP 作用后紫外 吸收光谱的变化较小或几乎没有变化。由实验结 果可知,N-错位卟啉对麦芽糖有出色的选择性识 别效果^[15]。

2.2.2 反应时间对 NCTCPP 与麦芽糖作用的 影响

控制反应温度、麦芽糖的浓度等为常量,改变 反应时间(0、1、2、3、4、5 min),采用紫外-可见吸 收光谱法测定反应时间对 NCTCPP 与麦芽糖作 用的影响,所得谱图如图 9 所示。



由上到下依次为 5、4、3、2、1、0 min

图 9 不同反应时间下 NCTCPP 对麦芽糖作用的 紫外-可见吸收光谱

Fig.9 UV-Visible absorption spectra of NCTCPP with maltose at different reaction time

由图 9 可知,NCTCPP 同麦芽糖反应 1 min 后,N带、Soret带、Q带的吸光度均已大幅度提 升,428 nm 附近(Soret带)的增长幅度约达到了 0 min 时的 1.4倍。继续增加反应时间,其紫外-可见吸收光谱图中峰位和吸光度变化缓慢,直到 反应时间为 5 min 时,NCTCPP Soret带吸光度与 1 min 相比,有下降趋势。由实验结果可知, NCTCPP 与麦芽糖作用速度快,因此 NCTCPP 与 麦芽糖的反应时间控制在 1 min 即可。

2.2.3 反应温度对 NCTCPP 与麦芽糖作用的 影响

控制其他变量不变,将 NCTCPP 与麦芽糖的 混合物置于不同温度的反应体系中充分混合 (20、25、30、35、40 ℃),采用紫外-可见吸收光谱 法测定反应温度对 NCTCPP 与麦芽糖作用的影 响,结果如图 10 所示。

由图 10 可知,随着反应体系的温度升高,其 Soret 带的吸光度略有增大。当体系温度升高至







35 ℃时,相比于 30 ℃, Soret 带吸光度有略增大趋势,继续升温至 40 ℃, Soret 带吸光度变化并不明显。综合考虑主客体间作用效果和经济效益,最 佳反应温度为 35 ℃。

2.2.4 糖浓度对 NCTCPP 与麦芽糖作用的影响

控制反应时间、反应温度等变量,调节麦芽糖 的浓度为 3.0×10⁻⁴、7.0×10⁻⁴、9.0×10⁻⁴、1.9× 10⁻³、3.9×10⁻³、5.9×10⁻³ mol/L,采用紫外-可见 吸收光谱法测定糖浓度对 NCTCPP 与麦芽糖作 用的影响,所得结果如图 11 所示。由图 11 可知, 随着麦芽糖浓度的增大,反应体系在428 nm 附近 的 Soret 带的吸光度值先增大后略有降低,当糖浓 度从0增加到3.0×10⁻⁴ mol/L时,吸光度从0.7 增加至1.0:继续增加到1.9×10⁻³ mol/L时,吸光 度增大到原来的2倍,达到最大值1.4。由图8 可以看出,当糖浓度为1.0×10⁻¹ mol/L 时,吸光度 达到 1.5 增加至原来的 2 倍左右。从图 11 可以 看出,当糖浓度大于1.9×10⁻³ mol/L时,继续增加 糖的浓度至 1.9×10⁻³ mol/L,吸光度略有下降。 这可能是由于加入糖的体积不断增大对整个溶液 体系起到稀释作用。从以上结果可以看出,当加



图 11 NCTCPP 对不同浓度的麦芽糖作用的 紫外-可见吸收光谱

Fig.11 UV-Visible absorption spectra of NCTCPP with different concentrations of maltose

入的麦芽糖的浓度>1.9×10⁻³ mol/L 时,吸光度均 增加为原来未加糖的 2 倍左右,表明 NCTCPP 识 别麦芽糖的浓度范围>1.9×10⁻³ mol/L。NCTCPP 的紫外-可见吸收光谱随麦芽糖浓度增加呈现规 律性变化进一步证实 NCTCPP 与麦芽糖之间发 生了相互作用并形成了配合物。

2.3 结合常数与配合物化学计量数的计算

根据 2.2.4 实验结果显示,N-错位卟啉与麦 芽糖间作用随糖浓度的增大呈规律性变化,两者 之间形成了配合物,存在非共价键相互作用。卟 啉类化合物与糖的结合常数 K 的大小反映了两 者相互作用的强弱,根据下列公式可以计算 NCTCPP 与麦芽糖的相互作用的结合常数与结合 化学计量数。

 $1/\Delta A = 1/(\alpha K_n [G]_0^n) + 1/\alpha$

式中: ΔA 为 NCTCPP 在 428 nm 处的本身的吸光度与加入糖 后的吸光度的差值, [G_0]为麦芽糖的浓度。

当n=1时,以 $1/\Delta A$ 对 $1/[G_0]$ 作图时有良好的线性关系(图 12),且 $R^2 = 0.994$,则说明NCTCPP与麦芽糖形成的配合物体系中,两者结合化学计量数为1。根据428 nm 处吸光度的变化情况,根据上述公式进行计算得出两者的结合常数K为1.41×10² L/mol。对于NCTCPP而言,当溶于 pH 7.0 的NaH₂PO₄-Na₂HPO₄缓冲溶液时,主要以环外含有N—H的 isomer B 形式存在。NCTCPP环外的N—H和相邻羧基上的氧原子可通过氢键与一分子麦芽糖中两个顺式羟基相互作用,即NCTCPP与麦芽糖发生1:1配位。



3 结论

本文采用两步法合成羧酸 N-错位卟啉 NCTCPP,采用紫外-可见光谱法探究其对糖类化 合物的选择性识别作用。结果表明,反应时间为 1 min、反应温度为 35 ℃时,NCTCPP 对麦芽糖具 有较好的选择性识别作用,识别麦芽糖的浓度范 围为>1.9×10⁻³ mol/L。NCTCPP 环外的 N—H 和相邻羧基上的氧原子与一分子麦芽糖中两个 顺式羟基通过氢键发生 1:1配位结合且结合常 数为 1.41×10² L/mol。该研究成果为 N-错位卟 啉化学的发展拓宽了应用领域,也是分子识别 领域的一大发现,对生物化学、分析化学等具有 重大意义。

参考文献:

- [1]王文强.取代苯卟啉及 N-错位苯卟啉的合成、表征与 性质研究[D].济宁:曲阜师范大学,2016.
- [2] 王晓龙.N-错位卟啉等杂环化合物及其有机锡衍生物 的合成、表征和性质研究[D].济宁:曲阜师范大学, 2015.
- [3] 汪凌云, 曹德榕. 卟啉类光敏剂在光动力治疗中的应 用研究[J]. 有机化学, 2012, **32**(12): 2248-2264.
- [4]孙吉,唐雅琪,张宝地,等.卟啉类化合物的应用及其 前景[J].广州化工,2022,50(20):10-12.
- [5] 王全国,曾凡花,解永树,等.异卟啉研究进展[J].化学进展,2009,21(Z2):1523-1533.
- [6]彭素红.N-错位卟啉锰配合物的光物理性质、催化及 其与 DNA 和人血清蛋白的作用[D].广州:华南理工

大学,2016.

- [7] 陈天赐,张晓娟,徐浩根,等.邻甲基取代四苯基卟啉 化合物合成与光电性质的研究[J].化学世界,2019, **60**(11):789-794.
- [8] HARVEY J D,ZIEGLER C J.The metal complexes of Nconfused porphyrin as heme model compounds [J]. J. Inorg. Biochem., 2006, 99(4): 869-880.
- [9] 彭素红,周蓉,邹怀波.N-错位卟啉的研究进展[J].有 机化学,2019,39(12):3 384-3 398.
- [10]赵胜芳,陈年友,郭鑫,等.meso-四(4-羧基苯基)卟啉 及金属配合物的合成和对糖类的选择识别[J].有机 化学,2010,30(12):1898-1903.
- [11]罗狄锋.卟啉类化合物的合成及其对糖分子作用的 初步研究[D].北京:中国协和医科大学,2007.
- [12] 张帅.取代苯卟啉锡 N-错位卟啉苯卟啉的合成、表征 与性质研究[D].济宁:曲阜师范大学,2017.
- [13] FURUTA H, ASANO T, OGAWA T.N-confused porphyrin: A new isomer of tetraphenyl porphyrin [J]. J. Am. Chem. Soc., 1994, **116**(2):767-768.
- [14] YANG Y, SAKASHITA R, YAMASUMI K, et al.Zirconium-based metal-organic frameworks with N-confused porphyrins: Synthesis, structures, and optical properties [J].Chem.Lett., 2017, 46(8):1 230-1 232.
- [15]张韵获.苯硼酸衍生物的合成及糖识别性质研究 [D].沈阳:辽宁大学,2017.