

基于萘酰亚胺的 H₂S 可视化荧光探针构建

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2022.02.002

龚亮 徐琳 单秀芝
瞿杰 胡婉婧 汤建新
汤力

湖南工业大学
生命科学与化学学院
湖南 株洲 412007

摘要: 硫化氢 (H₂S) 在生物体中具有重要的调控作用, 但其具有剧毒, 一旦浓度超出生理水平, 会对呼吸系统、神经系统及心脏器官造成损伤。基于 1, 8-萘酰亚胺设计合成了一种对 H₂S 敏感的荧光探针 DHBID。研究发现, 随着 H₂S 含量的增加, 该探针在 480 nm 处荧光强度显著增强, 信背比可达 15 倍。以 Na₂S 作为 H₂S 供体, 当 Na₂S 浓度在 0~250 nmol/L 范围内, 该探针具有明显的响应信号, 且在 5~100 nmol/L 的范围内荧光强度与 Na₂S 浓度呈现良好的线性关系 $Y = 19.258X + 319.460$ ($R^2 = 0.9758$), 检测下限为 2 nmol/L。DHBID 探针对 H₂S 敏感, 反应时间相对较短 (30 min 即可完成), 并具有高选择性, 对常见的阴离子无响应。此外, 在响应范围内, 随着 H₂S 含量的增加, 反应溶液颜色逐渐由淡黄色变成玫红色, 从而实现对不同浓度 H₂S 的可视化检测。

关键词: 荧光探针; 硫化氢; 1, 8-萘酰亚胺衍生物; 可视化检测

中图分类号: O657.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2022)02-0015-07

引文格式: 龚亮, 徐琳, 单秀芝, 等. 基于萘酰亚胺的 H₂S 可视化荧光探针构建 [J]. 包装学报, 2022, 14(2): 15-21.

1 研究背景

硫化氢 (H₂S) 是一种无色、易燃、有恶臭的有毒气体, 具有溶脂性。人体长时间接触 H₂S 会造成眼睛和呼吸系统损伤, 过量摄入会导致呼吸困难、心脏骤停, 严重者甚至会死亡^[1-2]。同时, H₂S 也是一种重要的内源性气体信号分子, 可通过体内多种生理过程产生。在生理浓度范围内, H₂S 在心脏保护、神经调节、血管舒张等许多生理过程中发挥重要作用, 但一旦浓度超出生理水平, 会导致多种疾病, 如肝硬化、老年痴呆、胃黏膜损伤等^[3-4]。因此, 快速、

便捷、准确地检测环境和生物体内 H₂S 的浓度具有重要意义。

传统检测 H₂S 的方法主要有分光光度法、电化学测定法、液相色谱法、气相色谱法等^[5-15]。虽然这些方法能检测出环境和血液中的 H₂S 含量, 但是测试前需要对样品进行预处理, 且耗时较长, 无法快速、实时检测。H₂S 容易代谢分解, 繁琐的测试前处理往往导致检测结果误差较大。荧光分析法具有灵敏度高、响应快速、非破坏性, 并可对目标物进行原位实时检测等特点, 近年来被广泛用于分析检测领域^[16-21]。利用 H₂S 的还原性和亲核性, 目前研发人员开发了

收稿日期: 2022-01-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21705043); 湖南省研究生科研创新基金资助项目 (CX2018B733)

作者简介: 龚亮 (1987-), 女, 湖南双峰人, 湖南工业大学讲师, 博士, 主要研究方向为荧光探针与生物传感,
E-mail: gl569940808@126.com

通信作者: 汤力 (1988-), 男, 湖南张家界人, 湖南工业大学讲师, 博士, 主要研究方向为水凝胶传感器的构建,
E-mail: tangli_352@163.com.

许多检测 H_2S 的荧光探针, 然而, 这些荧光探针大多是传统有机小分子荧光探针, 存在斯托克斯位移小等缺点, 易导致背景干扰大, 荧光自吸收高。

1, 8- 萘酰亚胺是一种重要的荧光基团, 具有光稳定性好、量子产率高、斯托克斯位移大、易于合成及修饰等优点, 常被用于模块化合成各类荧光探针^[22-25]。本文基于 1, 8- 萘酰亚胺设计合成了一种新的荧光探针 DHBID, 其结构及对 H_2S 的响应机理如图 1 所示。该探针以 1, 8- 萘酰亚胺基作为荧光基团, 2, 4- 二硝基苯基作为猝灭基团, 在没有 H_2S 存在时, 1, 8- 萘酰亚胺与 2, 4- 二硝基苯之间发生了分子内电荷转移 (intramolecular charge transfer, ICT), 导致 1, 8- 萘酰亚胺的荧光被 2, 4- 二硝基苯猝灭, 因此该探针自身荧光十分微弱; 但与 H_2S 反应后, 荧光探针分子内的醚键断裂, 荧光基团与猝灭基团脱离, 1, 8- 萘酰亚胺的荧光恢复。该荧光探针可选择性识别 H_2S , 通过荧光从无到有, 实现对 H_2S 的“turn-on”定量检测。

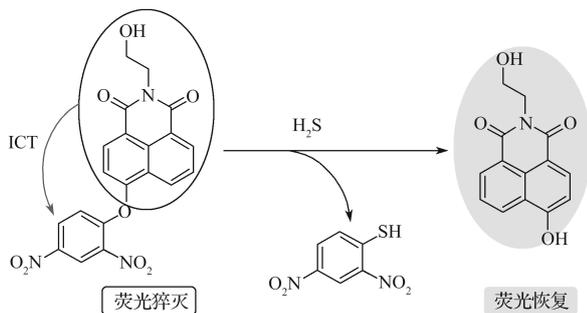


图 1 DHBID 荧光探针的结构及对 H_2S 的响应机理
Fig. 1 Structure of fluorescent probe DHBID and its reaction mechanism with H_2S

2 实验

2.1 实验试剂与仪器

1) 主要试剂

4- 溴 -1, 8- 萘二甲酸酐 (4-Bromo-1, 8- naphthalic

anhydride, NA, 纯度为 96%)、乙醇胺 (纯度为 99%)、2, 4- 二硝基氟苯、无水碳酸钾 (K_2CO_3 , 纯度为 99%)、无水硫化钠 (Na_2S , 纯度为 95%)、乙醇、N, N- 二甲基甲酰胺 (N, N-dimethyl-formamide, DMF)、四氢呋喃 (tetrahydrofuran, THF), 以上试剂均为分析纯, 购于阿拉丁试剂有限公司。

2) 主要仪器

核磁共振波谱仪, Avance 500 型, 瑞士 Bruker 公司; 紫外光谱仪, UV3600 型, 日本岛津公司; 荧光分光光度计, LS45/55 型, 美国 PE 公司。

2.2 探针的合成

探针 DHBID 的合成路线如图 2 所示。由图 2 可知, 反应物 4- 溴 -1, 8- 萘二甲酸酐 (NA), 经两步亲核 - 消除过程, 得到反应中间体 1 (Br-BN-OH); 之后, 在碱性条件下, Br-BN-OH 进一步发生取代反应, 生成反应中间体 2 (HO-BN-OH); 最后, HO-BN-OH 与 2, 4- 二硝基氟苯发生取代反应, 获得产物荧光探针 DHBID, 总产率为 57.81%。荧光探针 DHBID 合成过程具体操作如下。

2.2.1 化合物 Br-BN-OH 的合成

称取 2.070 g 4- 溴 -1, 8- 萘二甲酸酐 (7.5 mmol)、0.579 g 乙醇胺 (9.0 mmol) 溶于 120 mL 乙醇中, 加热回流 4 h。将反应后的混合物进行冰水浴, 使产物完全析出, 抽滤, 用乙醇或丙酮洗涤滤饼 3 次, 真空干燥得到化合物 Br-BN-OH。测定其产率为 84.54%。 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz), 化学位移 δ (TMS): 8.58~8.69 (q, 2H), 8.42~8.44 (d, 1H), 8.04~8.07 (d, 1H), 7.84~7.89 (t, 1H), 4.44~4.47 (t, 2H), 3.96~4.01 (d, 2H), 2.25~2.29 (t, 1H)。

2.2.2 化合物 HO-BN-OH 的合成

称取 1.92 g (6.00 mmol) 产物 Br-BN-OH 充分溶解到 120 mL DMF 中, 加入 6.00 g (43.48 mmol) 碳酸钾, 在 95 $^{\circ}C$ 下回流 6 h。反应结束后, 将蒸馏

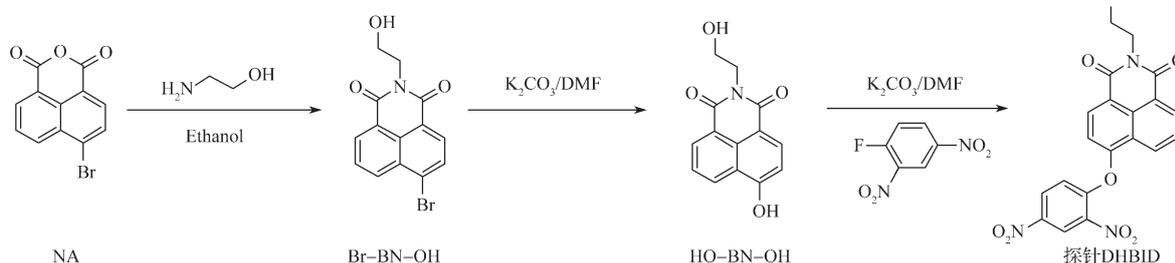


图 2 DHBID 荧光探针的合成路线
Fig. 2 Synthetic routes of fluorescent probe DHBID

烧瓶冷却到室温, 加入 40 mL 冷的去离子水, 静置, 析出橘黄色沉淀。待沉淀完全析出后抽滤, 用水洗涤 3 次, 将产物于 60 °C 下真空干燥, 即得到化合物 HO-BN-OH。测定其产率为 85.35%。¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz), δ (TMS): 8.48~8.53 (t, 2H), 8.27~8.30 (d, 1H), 8.16~8.18 (d, 1H), 7.93~7.98 (q, 1H), 4.78~4.82 (t, 1H), 4.09~4.11 (d, 2H), 3.57~3.64 (q, 2H), 2.5 (s, 1H)。

2.2.3 化合物 DHBID 的合成

称取 1.028 g (4.00 mmol) 产物 HO-BN-OH 充分溶解在 20 mL DMF 中, 加入 2.000 g (14.47 mmol) 碳酸钾和 0.892 g 2, 4-二硝基氟苯, 在 90 °C 下避光回流 6 h。反应结束后, 将蒸馏烧瓶放置在黑暗环境中自然冷却到室温, 再加入 20 mL 去离子水使其沉淀析出, 快速抽滤、洗涤。然后将产物置于 60 °C 干燥机中避光干燥, 即得到目标荧光探针 DHBID。测定其产率为 80.12%。¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz), δ (TMS): 8.65~8.66 (d, 1H), 8.54~8.58 (m, 2H), 8.45~8.48 (t, 1H), 8.32~8.34 (d, 1H), 8.21~8.23 (d, 1H), 8.00~8.02 (d, 1H), 7.63~7.66 (d, 1H), 4.63~4.67 (t, 2H), 4.46~4.50 (t, 2H), 2.5 (s, 1H)。

2.3 响应性质测定

2.3.1 光谱分析

配制浓度为 10 μ mol/L 的探针 DHBID 母液 (溶剂为 THF)。测定在终浓度为 1 μ mol/L 的探针 DHBID 溶液中, 加入终浓度为 1 μ mol/L Na₂S 前后的紫外吸收、荧光发射光谱。

2.3.2 浓度响应曲线

配制浓度为 10 μ mol/L 的探针 DHBID 溶液 (溶剂为 THF), 以及一系列不同浓度的 Na₂S 溶液 (现配现用)。分别将 DHBID 溶液 (终浓度为 1 μ mol/L) 加入不同浓度的 Na₂S 溶液中 (终浓度为 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 nmol/L) 进行反应 (实验中采用 Na₂S 作为 H₂S 供体), 测定反应后溶液的荧光光谱。

2.3.3 温度与时间响应

分别配制浓度为 10 μ mol/L 的探针 DHBID 溶液 a/b/c (溶剂为 DMF), 和 25 nmol/L 的 Na₂S 溶液, 两者按照体积比 1:9 混合 (总体积为 1 mL), 将混合溶液分别置于 25, 37, 60 °C 的恒温水浴环境中进行反应, 连续测定反应一定时间后溶液的荧光光谱, 探究温度、时间分别对 DHBID 荧光探针检测 Na₂S 的响应情况。

2.3.4 选择性试验

分别配制浓度为 10 μ mol/L 的 F⁻、Cl⁻、Br⁻、I⁻、SO₄²⁻、S₂O₈²⁻、S₂O₃²⁻、SCN⁻、CO₃²⁻、HCO₃⁻、OH⁻、N₃⁻、HPO₄²⁻、CH₃COO⁻、CH₃CHCOO⁻ 的钠盐溶液, 各取 100 μ L 分别加入到含有 100 μ L 10 μ mol/L DHBID 和 900 μ L THF 的混合液中, 混合均匀。将各组溶液分别放置在自然条件下以及紫外光激发条件下, 观察各溶液颜色或荧光情况, 并测定各组的荧光强度。

3 结果与讨论

3.1 荧光探针的光学性质

探针分子 DHBID 以 1, 8-萘酰亚胺基作为荧光基团, 共轭结构的存在使其表现出较强的紫外吸收, 2, 4-二硝基苯基作为猝灭基团。在没有 H₂S 存在时, 1, 8-萘酰亚胺与 2, 4-二硝基苯之间发生分子内电荷转移, 致使该探针自身荧光十分微弱; 当有 H₂S 存在时, 荧光基团与猝灭基团脱离, 1, 8-萘酰亚胺的荧光恢复。荧光探针 DHBID 在加入 Na₂S 前后的 UV-Vis 吸收光谱及荧光发射光谱如图 3 所示。

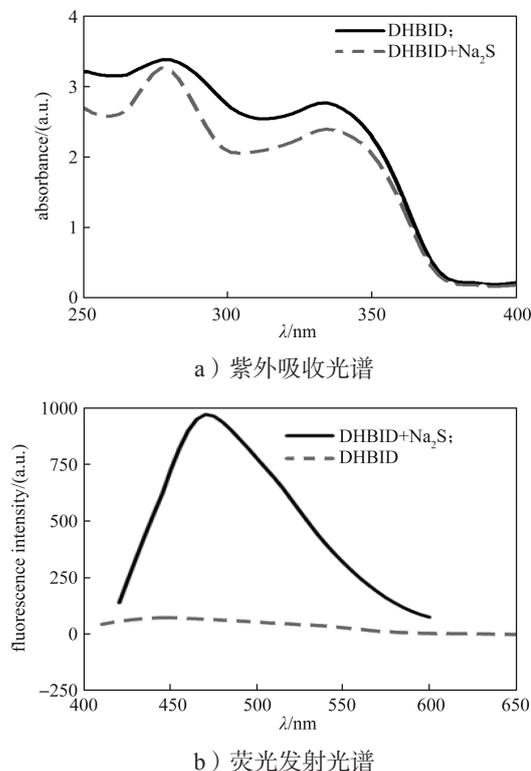


图 3 加入 Na₂S 前后 DHBID 的光学性质
Fig. 3 Optical properties of DHBID before and after adding Na₂S

由图 3a 可知, DHBID 在加入 Na_2S 前后的紫外吸收光谱都在 275, 339 nm 处呈现吸收带, 且在与 Na_2S 反应后, 275 nm 处吸收有所增强。由图 3b 可知, DHBID 探针分子在加入 Na_2S 之前, 体系几乎没有荧光; 当加入 Na_2S 后, 在 480 nm 处荧光显著增强。这是因为荧光探针分子内的醚键断裂, 荧光基团与猝灭基团脱离, 1, 8-萘酰亚胺的荧光恢复, 呈“turn on”信号响应变化。

3.2 反应温度与响应时间对荧光探针的影响

温度对化学反应的影响非常明显, 且荧光探针 DHBID 是被用于检测人体内的内源性小分子 H_2S , 因此, 本研究首先探讨了温度对荧光探针的活性影响。图 4 是荧光探针在相同 Na_2S 浓度下, 不同温度下 (25, 37, 60 °C) 的荧光强度随反应时间的变化曲线。

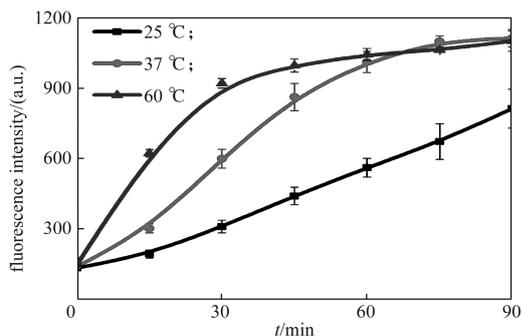


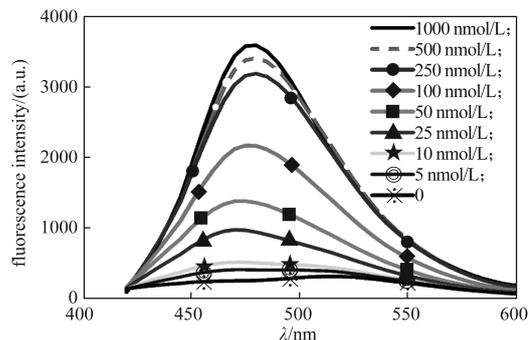
图 4 不同温度和时间下 DHBID 对 H_2S 响应的荧光变化曲线

Fig. 4 Fluorescence curve of DHBID response to H_2S at different temperature and time

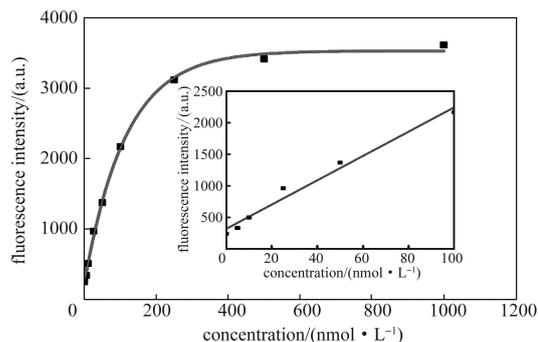
由图 4 可以看出, 在反应初始阶段, 不同温度下 DHBID 的荧光强度均随时间的增加迅速增强, 但增强幅度有所不同。当温度为 60 °C 时, 反应初期探针的荧光强度增加最快, 但反应 30 min 后, 体系的荧光强度增幅较弱, 逐渐形成一个比较稳定的平台, 这意味着荧光探针与 H_2S 的反应基本完成。当温度为 37 °C 时, 在 60 min 内, 体系的荧光强度随着时间的增加而增强, 之后达到了相对稳定的平台, 且荧光强度最大值与 60 °C 的最大值几乎吻合。当温度为 25 °C 时, 在 90 min 的反应时间内, 体系的荧光强度一直随时间的增加而增强, 并没有出现稳定的平台, 且荧光强度最大值小于 37, 60 °C 的最大荧光强度。由此说明, 温度对荧光探针的活性影响较大, 在较低的温度环境中, 荧光探针与 Na_2S 的反应速度较慢。故本研究选取反应温度 37 °C, 反应时间 60 min 作为测试条件。

3.3 荧光探针对于 Na_2S 的响应

图 5 是荧光探针 DHBID 对不同浓度 Na_2S 的荧光响应光谱图 (图 5a) 及浓度响应曲线 (图 5b), 其中图 b 的内嵌图为 DHBID 对低浓度 Na_2S 的线性相关曲线。



a) 荧光响应光谱



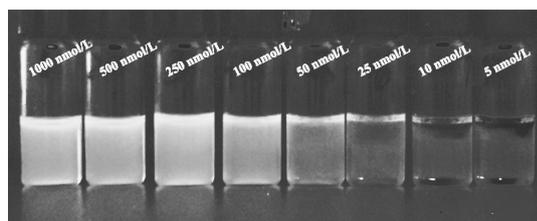
b) 浓度响应曲线

图 5 DHBID 对 Na_2S 浓度的荧光响应光谱及响应曲线
Fig. 5 The fluorescence curve of DHBID probe in response to different concentrations of Na_2S

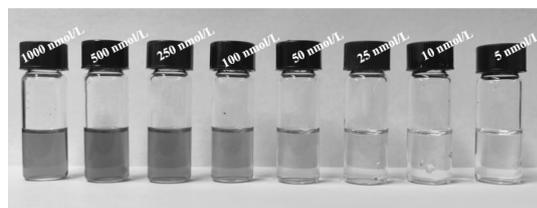
如图 5 可知, 在终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 DHBID 探针溶液中, 随着 Na_2S 的浓度由 0 增加到 250 nmol/L, 溶液中荧光强度显著增强, 并在 5~100 nmol/L 的范围内, 探针的荧光强度与 Na_2S 浓度呈现良好的线性关系, 拟合回归方程为: $Y = 19.258X + 319.460$, $R^2 = 0.9758$ 。在 250~1000 nmol/L 范围内, 荧光强度增长缓慢, 并趋于平衡, 表明 DHBID 与 Na_2S 已基本反应完全, 此时信背比达 15 倍。

同时, 根据 $3\sigma/k$ 规则, 计算出 DHBID 探针对 Na_2S 浓度的检测下限为 2 nmol/L。其中: σ 为空白荧光强度标准偏差, k 为线性方程斜率。

图 6 为在 365 nm 紫外灯 (图 6a) 及白光灯 (图 6b) 照射下, 加入不同浓度的 Na_2S 后, 溶液体系的荧光及颜色变化。



a) 紫外灯照射下



b) 白光灯照射下

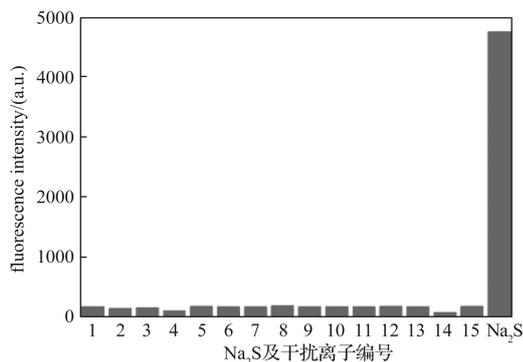
图6 在紫外灯和白光灯下 DHBID 对不同浓度 Na_2S 的响应Fig. 6 Visualized detection of Na_2S images by DHBID under UV and white light

彩图

由图6可知,随着 Na_2S 浓度的增加,紫外灯下溶液体系的荧光颜色逐渐增强,白光灯下溶液的颜色逐渐由淡黄色变为玫红色;在 Na_2S 浓度达到 250 nmol/L 后,两种灯光下溶液颜色不再随 Na_2S 浓度的增加而发生明显变化。因此,当 Na_2S 浓度在 5~250 nmol/L 范围内,DHBID 荧光探针可通过颜色变化,对环境中 Na_2S 的浓度实现半定量检测。该检测方法更加直观、方便,无需其它检测仪器与手段辅助。

3.4 探针选择性

探针的选择性是决定探针能否准确检测样品的重要性能。为此,本研究测试了 DHBID 荧光探针对于 15 种自然界或人体内常见阴离子的选择性,包括 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 SO_4^{2-} 、 $S_2O_8^{2-}$ 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 SCN^- 、 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 OH^- 、 N_3^- 、 HPO_4^{2-} 、 CH_3COO^- 、 CH_3CHCOO^- (依次编号为 1~15),得到 15 种干扰离子的荧光响应强度及肉眼、紫外灯下荧光响应情况如图 7 所示。



a) 荧光强度测量值



b) 肉眼及紫外灯下观察荧光响应现象

图7 DHBID 对不同潜在干扰离子的响应情况

Fig. 7 The response of DHBID probe to different potentially interfering ions



彩图

如图7a所示,向荧光探针体系中加入等浓度的各种干扰阴离子溶液及 Na_2S 溶液,只有加入 Na_2S 溶液后的样品才呈现明显的荧光响应信号,其他阴离子基本上无荧光信号。图7b中在 365 nm 的紫外灯照射下,只有加入 Na_2S 溶液后的样品呈蓝绿色,其它样品没有荧光响应。同时,通过肉眼可以观察到,只有在加入 Na_2S 溶液后的样品呈玫红色,其它样品依旧无颜色变化。综上所述,该探针对于硫化氢具有高度的响应性及选择性,且该探针对于硫化氢的检测可实现“裸眼”检测。

4 结论

本研究基于 1, 8-萘酰亚胺合成了一种新型荧光探针 DHBID,并将其用于 H_2S 检测。该探针合成、提纯步骤简单,并对 H_2S 响应度高。与不同浓度的硫化钠反应后,在 5~250 nmol/L 范围内,DHBID 具有明显的“turn-on”型荧光响应信号,且在 5~100 nmol/L 的范围内探针荧光强度与 Na_2S 浓度呈现良好的线性关系,检测下限可达 2 nmol/L。选择性测试表明,DHBID 探针对复杂环境中常见的阴离子无响应信号,因此能对 H_2S 表现出高选择性。此外,在加入不同浓度的硫化钠后,体系的颜色会逐渐由淡黄色变为玫红色,实现对硫化氢浓度的可视化检测。

参考文献:

- [1] PALANISAMY S, LEE L Y, WANG Y L, et al. A Water Soluble and Fast Response Fluorescent Turn-on Copper Complex Probe for H_2S Detection in Zebra Fish[J]. Talanta, 2016, 147: 445-452.
- [2] SASAKURA K, HANAOKA K, SHIBUYA N, et al. Development of a Highly Selective Fluorescence

- Probe for Hydrogen Sulfide[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(45): 18003–18005.
- [3] ABE K, KIMURA H. The Possible Role of Hydrogen Sulfide as an Endogenous Neuromodulator[J]. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 1996, 16(3): 1066–1071.
- [4] BOEHNING D, SNYDER S H. Novel Neural Modulators[J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2003, 26: 105–131.
- [5] BALASUBRAMANIAN S, PUGALENTHI V. A Comparative Study of the Determination of Sulphide in Tannery Waste Water by Ion Selective Electrode (ISE) and Iodimetry[J]. *Water Research*, 2000, 34(17): 4201–4206.
- [6] PAWLAK Z, PAWLAK A S. Modification of Iodometric Determination of Total and Reactive Sulfide in Environmental Samples[J]. *Talanta*, 1999, 48(2): 347–353.
- [7] LEI W, DASGUPTA P K. Determination of Sulfide and Mercaptans in Caustic Scrubbing Liquor[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1989, 226(1): 165–170.
- [8] HUGHES M N, CENTELLES M N, MOORE K P. Making and Working with Hydrogen Sulfide: The Chemistry and Generation of Hydrogen Sulfide in Vitro and Its Measurement in Vivo: A Review[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 47(10): 1346–1353.
- [9] CHOI M G, CHA S, LEE H, et al. Sulfide-Selective Chemosignaling by a Cu^{2+} Complex of Dipicolylamine Appended Fluorescein[J]. *Chemical Communications*, 2009(47): 7390–7392.
- [10] POULY F, TOURAUD E, BUISSON J F, et al. An Alternative Method for the Measurement of Mineral Sulphide in Wastewater[J]. *Talanta*, 1999, 50(4): 737–742.
- [11] GUENTHER E A, JOHNSON K S, COALE K H. Direct Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Total Sulfide and Iodide in Natural Waters[J]. *Analytical Chemistry*, 2001, 73(14): 3481–3487.
- [12] LAWRENCE N S, DAVIS J, JIANG L, et al. The Electrochemical Analog of the Methylene Blue Reaction: A Novel Amperometric Approach to the Detection of Hydrogen Sulfide[J]. *Electroanalysis*, 2000, 12(18): 1453–1460.
- [13] DOELLER J E, ISBELL T S, BENAVIDES G, et al. Polarographic Measurement of Hydrogen Sulfide Production and Consumption by Mammalian Tissues[J]. *Analytical Biochemistry*, 2005, 341(1): 40–51.
- [14] RADFORD-KNOERY J, CUTTER G A. Determination of Carbonyl Sulfide and Hydrogen Sulfide Species in Natural Waters Using Specialized Collection Procedures and Gas Chromatography with Flame Photometric Detection[J]. *Analytical Chemistry*, 1993, 65(8): 976–982.
- [15] UBUKAT, ABE T, KAJIKAWA R, et al. Determination of Hydrogen Sulfide and Acid-Labile Sulfur in Animal Tissues by Gas Chromatography and Ion Chromatography[J]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 2001, 757(1): 31–37.
- [16] YUAN L, LIN W Y, ZHAO S, et al. A Unique Approach to Development of Near-Infrared Fluorescent Sensors for in Vivo Imaging[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(32): 13510–13523.
- [17] SASAKURA K, HANAOKA K, SHIBUYA N, et al. Development of a Highly Selective Fluorescence Probe for Hydrogen Sulfide[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(45): 18003–18005.
- [18] WROBEL A T, JOHNSTONE T C, LIANG A D, et al. A Fast and Selective Near-Infrared Fluorescent Sensor for Multicolor Imaging of Biological Nitroxyl (HNO) [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(12): 4697–4705.
- [19] YU D H, HUANG F H, DING S S, et al. Near-Infrared Fluorescent Probe for Detection of Thiophenols in Water Samples and Living Cells[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(17): 8835–8841.
- [20] ZHANG Q, ZHANG Y, DING S S, et al. A Near-Infrared Fluorescent Probe for Rapid, Colorimetric and Ratiometric Detection of Bisulfite in Food, Serum, and Living Cells[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 211: 377–384.
- [21] GONG L, LIU S M, SONG Y, et al. A Versatile Luminescent Resonance Energy Transfer (LRET)-Based Ratiometric Upconversion Nanoprobe for Intracellular miRNA Biosensing[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(27): 5952–5961.
- [22] MEKA R K, HEAGY M D. Selective Modulation of Internal Charge Transfer and Photoinduced Electron Transfer Processes in N-Aryl-1, 8-Naphthalimide Derivatives: Applications in Reaction-Based Fluorogenic Sensing of Sulfide[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2017, 82(23): 12153–12161.
- [23] ZHANG L, MENG W Q, LU L, et al. Selective Detection of Endogenous H_2S in Living Cells and the Mouse Hippocampus Using a Ratiometric Fluorescent Probe[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 5870.

- [24] ZHANG L, LI S, HONG M, et al. A Colorimetric and Ratiometric Fluorescent Probe for the Imaging of Endogenous Hydrogen Sulphide in Living Cells and Sulphide Determination in Mouse Hippocampus[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2014, 12(28): 5115–5125.
- [25] WANG J L, CHEN Y, YANG C Y, et al. An ICT-

Based Colorimetric and Ratiometric Fluorescent Probe for Hydrogen Sulfide and Its Application in Live Cell Imaging[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(39): 33031–33035.

(责任编辑: 李玉华)

Construction of a Visual H₂S Fluorescent Probe Based on Naphthalimide

GONG Liang, XU Lin, SHAN Xiuzhi, QU Jie, HU Wanjing, TANG Jianxin, TANG Li

(College of Life Sciences and Chemistry, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: Hydrogen sulfide (H₂S) plays an important regulatory role in organisms. However, it is highly toxic, and once the concentration exceeds physiological levels, it can damage the respiratory system, nervous system and even heart organs. A H₂S-sensitive fluorescent probe DHBID based on 1, 8-naphthimide was designed and synthesized. Experimental results showed that fluorescence intensity at 480 nm was significantly enhanced with the increase in Na₂S concentration, with the signal-to-background ratio up to 15 times. With the Na₂S used as H₂S donor, the probe DHBID showed an obvious response signal to H₂S in the range of 0~250 nmol/L, and had a good linear relationship in the concentration range of 5~100 nmol/L with its correlation equation expressed as $Y = 19.258X + 319.460$ ($R^2 = 0.9758$), with the detection limit of 2 nmol/L. The probe was highly sensitive to H₂S with a relatively short reaction time, and highly selective with no response to common anions. Besides, within response range, with the increase in H₂S concentration, the color of the reaction solution gradually changed from light yellow to rose red, which could realize the visual detection of H₂S with different concentrations.

Keywords: fluorescent probe; hydrogen sulfide; derivatives of 1, 8-naphthalimide; visual detection