

# 基于三苯胺的双氰基二苯代乙烯型 双光子荧光溶剂生色探针

黄池宝, 潘 洪, 陈华仕, 梁 兴, 吕国岭

(遵义师范学院化学化工学院, 遵义 563002)

**摘要** 以双氰基二苯代乙烯为双光子荧光母体, 借助电子供体- $\pi$ -电子受体(D- $\pi$ -A)构-效关系, 以二苯氨基作电子供体, 氰基作电子受体, 开发了一个新型的双光子荧光溶剂生色探针(SP1), 并对其结构进行了表征. 性能测试结果表明, SP1在环己烷和二甲亚砜(DMSO)中的最大发射波长分别为452和604 nm, 显示出很宽的溶剂生色范围(152 nm), 可用于溶剂极性与黏度的检测, 亦能根据最大发射波长识别溶剂种类. SP1拥有较大的双光子吸收截面, 在环己烷和DMSO中的最大双光子吸收截面分别为6670和2040 GM, 并具有较大的斯托克斯位移(194 nm), 其光稳定性、水溶性和细胞渗透性均比较优良. 该探针可用于细胞中黏度的检测与成像.

**关键词** 双光子荧光溶剂生色探针; 溶剂极性; 黏度; 细胞成像

**中图分类号** O625 **文献标志码** A

荧光团对外部因素的响应是否强烈决定着双光子荧光探针的性能, 这些外部因素亦称外部客体, 包括极性、黏度、温度、pH值和离子浓度等. 作为双光子荧光团又必须具备较大的双光子吸收截面( $\delta_{TPA}$ )和适宜的生物成像激发窗口(700~1000 nm, 缩减散射和样品吸收). 与基于光诱导电子迁移(PET)机制<sup>[1]</sup>的探针相比, 溶剂生色探针扬弃了固定波长上的荧光增强与减弱, 通过监控波长的变动来锁定待测物<sup>[2-4]</sup>. 已报道的双光子溶剂生色探针<sup>[5-8]</sup>较单光子的<sup>[9-34]</sup>要少得多, 其中能用于生物成像的更少<sup>[6,7]</sup>, 也未将应用扩展至黏度与温度; 此外, 还伴随溶剂生色范围窄和低 $\delta_{TPA}$ 值. 一个理想的双光子溶剂生色探针必须具备宽的溶剂生色范围、小的分子尺寸、高 $\delta_{TPA}$ 值和优良的光稳定性.

本文拓宽了前文<sup>[35-38]</sup>工作, 以拥有电子供体- $\pi$ -电子受体(D- $\pi$ -A)结构的推-拉电子生色团(DCS)为双光子荧光母体, 开发了一个新型的溶剂生色探针(SP1). 探针SP1显示出宽的溶剂生色范围, 可用于溶剂极性、黏度的检测和细胞成像.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

所用试剂和溶剂均为分析纯, 使用前均经除水精制.

Varian Inova-400型核磁共振波谱仪(美国Varian公司); RF-5000型荧光分光光度计(日本岛津公司); HP 8453型紫外-可见分光光度计(美国惠普公司); Mira 900-F型锁模飞秒钛蓝宝石激光器(美国Coherent公司); PMA-182型光子计数探测器(德国PicoQuant公司); 气相色谱-飞行时间质谱联用仪

收稿日期: 2018-02-28. 网络出版日期: 2018-06-20.

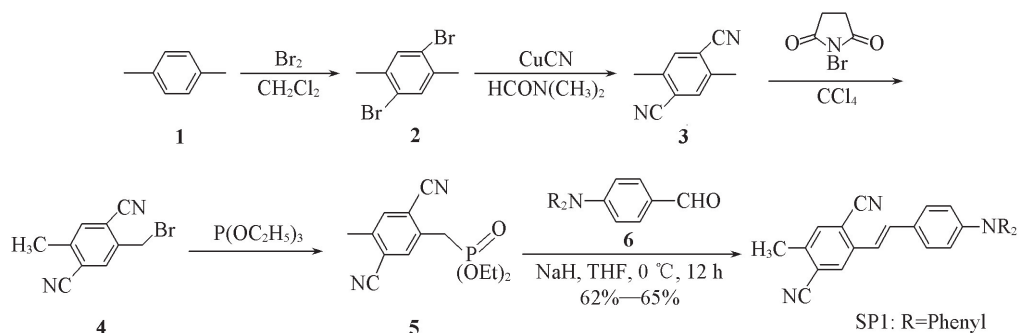
基金项目: 贵州省高层次创新型人才培养计划项目——“百”层次人才(批准号: 黔科合平台人才[2016]5683)、国家自然科学基金(批准号: 21562050)、贵州省第八批科技创新人才团队建设专项基金[批准号: 黔科合人才团队(2015)4007]、贵州省科学技术基金项目(批准号: 黔科合J字[2015]2146)、贵州省教育厅自然科学重点研究项目(批准号: 黔教教KY字[2014]296)、贵州省教育厅省级本科教学工程建设项目(批准号: 黔教[2014]JXGChab)、遵义市“15851人才精英工程”项目[批准号: (2015)4007]和遵义市红花岗区科学技术项目(批准号: 遵红科合社字[2015]18)资助.

联系人简介: 黄池宝, 男, 博士, 教授, 主要从事双光子荧光探针方面的研究. E-mail: huangchibao@163.com

(EI 源, 美国 Waters 公司); Spectra Max 190 型全波长分子酶标仪(美国 Molecular Devices 公司).

## 1.2 实验过程

1.2.1 中间体 **2**~**6** 的合成 中间体 **2**<sup>[39]</sup>, **3**<sup>[39]</sup>, **4**<sup>[40]</sup>, **5**<sup>[40]</sup> 和 **6**<sup>[41]</sup> 均参照文献方法合成(见 Scheme 1). **2**, 5-二溴对-二甲苯(**2**)为白色针状晶体, m. p. 73.5~75 °C, EI-HRMS( $C_{33}H_{31}N_5S_2$  计算值),  $m/z$ : 263.9207(263.9571); **2**, 5-二甲基对苯二甲腈(**3**)为白色针状晶体, m. p. 210~212 °C, EI-HRMS( $C_{10}H_8N_2$  计算值),  $m/z$ : 156.0723(156.0687); 2-甲基-5-溴甲基对苯二甲腈(**4**)为白色粉末, m. p. 126~127 °C, EI-HRMS( $C_{10}H_7BrN_2$  计算值),  $m/z$ : 233.9747(233.9793); 1,4-二氰基-2-甲基-5-(二乙基磷酰基甲基)苯(**5**)为白色晶体, EI-HRMS( $C_{14}H_{17}N_2O_3P$  计算值),  $m/z$ : 292.0977(292.0977); 4-(*N,N*-二苯基氨基)苯甲醛(**6**)为白色粉末, EI-HRMS( $C_{21}H_{19}Cl_2N_3$  计算值),  $m/z$ : 274.1000(273.1154).



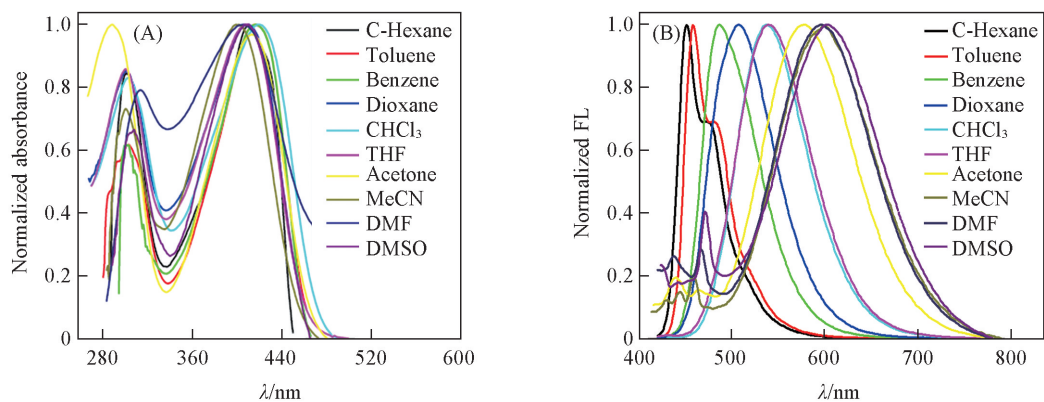
Scheme 1 Molecular structure and synthetic procedure of SP1

1.2.2 目标化合物(SP1)的合成 将化合物 **6**(273 mg, 1.00 mmol) 和 NaH(30 mg, 1.25 mmol) 置于装有 3 mL 四氢呋喃(THF)的 25 mL 干燥单口烧瓶中, 将恒压加料器连接在烧瓶上, 并抽真空用氮气保护. 将烧瓶置于冰水浴中冷却至 0 °C, 强烈搅拌下, 将化合物 **5**(292 mg, 1.00 mmol) 的 THF(10 mL) 溶液滴加到反应液中, 滴加结束后, 于此温度下继续搅拌反应 12 h. 反应完毕, 加入 5 mL 水, 产物用二氯甲烷萃取, 无水硫酸镁干燥, 过滤后滤液真空脱除溶剂. 粗品用柱色谱分离, 先用正己烷- $CH_2Cl_2$  溶液(正己烷体积分数由 20% 逐渐递减至 0), 然后用乙酸乙酯- $CH_2Cl_2$  溶液(乙酸乙酯体积分数由 0 逐渐递增至 20%) 进行洗脱, 经丙酮重结晶得产物 SP1 254 mg(0.62 mmol), 产率 62%, m. p. 213~214 °C. IR(KBr),  $\tilde{\nu}/cm^{-1}$ : 2237( $C\equiv N$ ), 1657;  $^1H$  NMR( $CDCl_3$ , 400 MHz),  $\delta$ : 7.977(s, 1H), 7.567(s, 1H), 7.424(d,  $J=7.6$  Hz, 2H), 7.310~7.258(m, 5H), 7.234(d,  $J=19.6$  Hz, 1H), 7.120(d,  $J=16.4$  Hz, 1H), 7.121~7.039(m, 5H), 2.565(s, 3H);  $^{13}C$  NMR( $CDCl_3$ , 100 MHz),  $\delta$ : 147.271, 139.893, 139.521, 134.617, 134.496, 129.622, 129.129, 128.484, 125.303, 123.937, 122.570, 119.731, 117.598, 116.885, 114.387, 20.132; 元素分析(%),  $C_{29}H_{21}N_3$  计算值): C 84.69(84.64), H 5.17(5.14), N 10.13(10.21); EI-HRMS( $C_{29}H_{21}N_3$  计算值),  $m/z$ : 411.1697(411.1735). 核磁共振氢谱和碳谱谱图见本文支持信息图 S1 和图 S2.

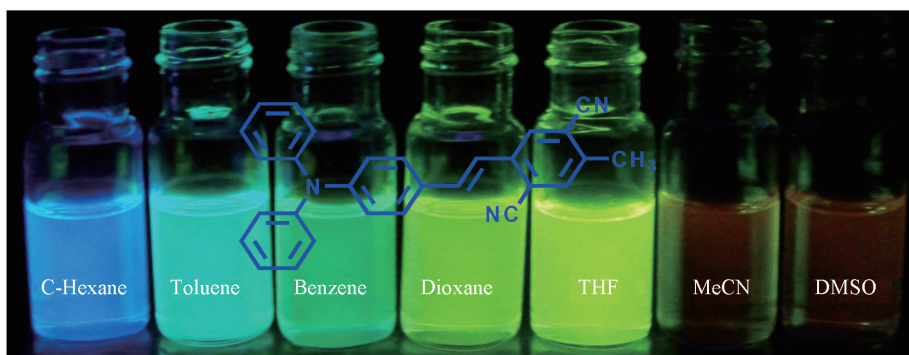
## 2 结果与讨论

### 2.1 探针 SP1 的单光子吸收与荧光光谱

为了获得探针 SP1 的溶剂生色特性, 研究了探针在各种溶剂[包括环己烷、甲苯、苯、二噁烷、四氢呋喃(THF)、氯仿( $CHCl_3$ )、丙酮、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、二甲亚砜(DMSO)和乙腈(MeCN)] 中的单光子吸收与荧光光谱. 结果表明, 其吸收光谱几乎不随溶剂变化[见图 1(A) 及本文支持信息表 S1]; 荧光光谱则显示出异常强烈的溶剂生色效应[见图 1(B)、图 2 及本文支持信息表 S1]. 只有几个衍生于二苯代乙烯且在单一芳香环上仅有 1 个取代基的溶剂生色探针<sup>[42~46]</sup> 被报道, 但并非理想的溶剂生色探针. 结果表明, 探针 SP1 的发射最大波长( $\lambda_{em}$ ) 从环己烷中的 452 nm 红移至 DMSO 中的 604 nm; 在 THF 中的发射波长范围为 450~725 nm, 在环己烷至 DMSO 的溶剂极性逐渐增大的过程中, 总的发射波长范围为 425~780 nm.

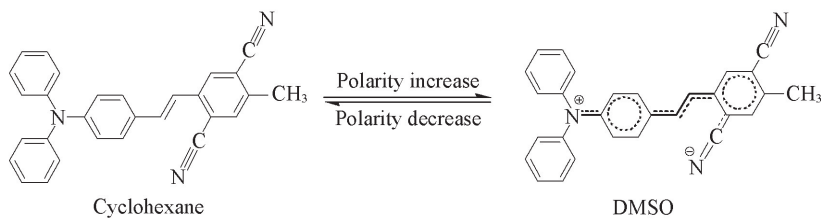


**Fig.1** Normalized absorption(A) and one-photon emission spectra(B) of SP1 in various solvents  
 $c(\text{SP1}) (\text{absorption}) = 10 \mu\text{mol/L}$ ,  $c(\text{SP1}) (\text{emission}) = 1 \mu\text{mol/L}$ ,  $\lambda_{\text{ex}}(\text{OP}) = 412 \text{ nm}$ .



**Fig.2** Pictures of fluorescence of SP1 in different solvents( $c = 1 \mu\text{mol/L}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$ )

探针 SP1 在极性溶剂中显示出 2 个特征强发射带(双荧光峰), 对应于 2 种激发态,  $a^*$  态(长波)与  $b^*$  态(短波). 根据扭转分子内电荷迁移(TICT)假设, 在激发态下电子供体部分(二苯氨基)绕氨基-芳基相连的 C—N 单键旋转, 在电子供体与受体之间伴随着电荷分离的发生(见 Scheme 2). 在极性溶剂中, 扭转的极性  $a^*$  态能被溶剂所稳定. 由于  $a^*$  态能量较低, 与基态的能级差较小, 发出的荧光能量相应较小, 波长较大, 显然大于未扭转的  $b^*$  态.



**Scheme 2** Charge separation profile of SP1

## 2.2 探针 SP1 的单-双光子荧光谱对黏度的依赖性

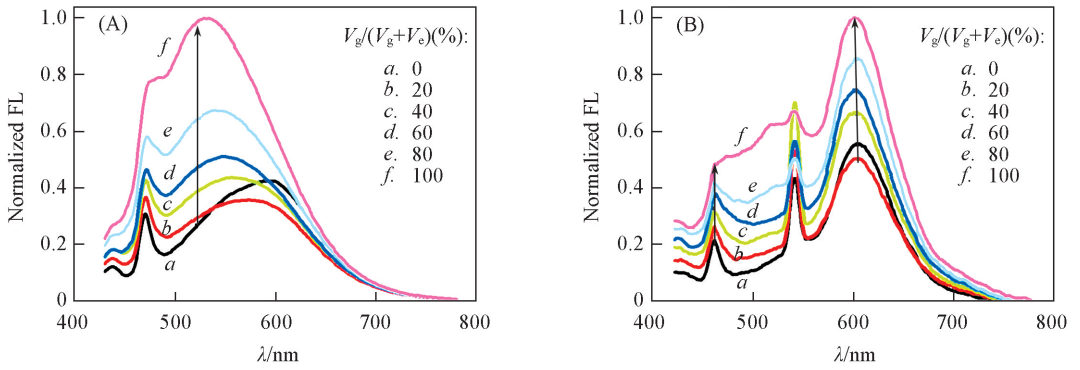
探针 SP1 在甘油中的 2 个荧光带(A 带与 B 带)的强度对黏度的依赖性在单-双光子发射中都有差异(图 3). 通常, B 带荧光强度随着黏度的增加而增强, A 带除了纯甘油这一临界状态外, 荧光强度亦随着黏度逐渐增强.

此外, 还研究了荧光强度与黏度的关系, 如图 4(A) 所示. 本质上, 探针 SP1 属于分子转子(Rotor), 分子转子是指经由分子内电荷迁移形成的一系列复合物(一系列是由扭转角不同导致的), 源于非辐射跃迁的荧光激发态<sup>[47]</sup>. 分子激发单重态的能量可通过荧光发射或分子内扭转得到释放.

根据 Förster-Hoffmann 方程<sup>[48]</sup>, 荧光量子产率( $\Phi$ )随着溶液黏度( $\eta$ )的增加而增大.

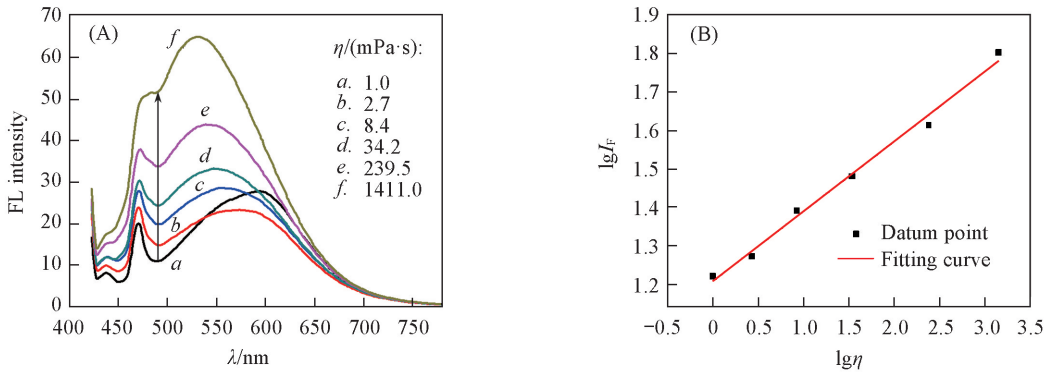
$$\lg \Phi = C + x \lg \eta \quad (1)$$

式中:  $x$  为染料特性常数;  $C$  为经验比例常数.



**Fig.3** Normalized one-(A) and two-photon(B) emission spectra of SP1 in glycerol-ethanol

One-photon  $\lambda_{\text{ex}} = 412 \text{ nm}$ ; two-photon  $\lambda_{\text{ex}} = 810 \text{ nm}$ ;  $c(\text{P2}) = 1 \mu\text{mol/L}$ ; g: glycerol, e: ethanol.



**Fig.4** One-photon emission spectra(A) and linear fitting curve(B) in a double-logarithmic scale of SP1 in various viscosity (glycerol-ethanol solution)

$c(\text{SP1}) = 1 \mu\text{mol/L}$ ,  $\lambda_{\text{ex}}(\text{OP}) = 412 \text{ nm}$ ,  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

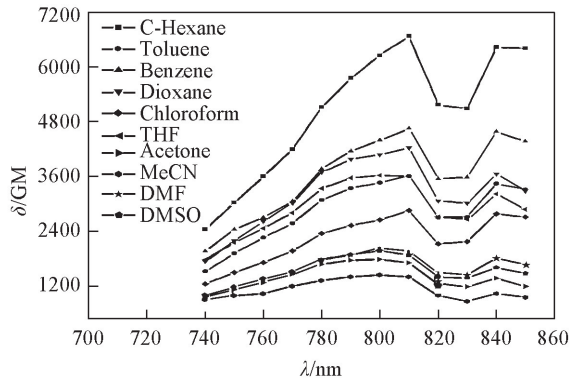
另外, 荧光发射强度与荧光量子产率成比例, 伴随稳态荧光, 式(1)可写成幂函数形式<sup>[49]</sup>:

$$I_{\text{F}} = \alpha \eta^x \quad (2)$$

式中: 常数  $\alpha$  是  $10^c$  与仪器因子以及染料浓度的乘积,  $\alpha$  体现了染料总的荧光强度的比较值;  $x$  反映了荧光强度随黏度变化的速度, 即染料的黏度敏感性. 将荧光强度与黏度同时取对数进行线性拟合, 结果如图 4(D) 所示,  $R^2 = 0.9904$ , 表明有较好的线性相关性, 函数表达式为  $\lg I_{\text{F}} = 1.20906 + 0.18169 \lg \eta$ .

### 2.3 双光子吸收截面与激发波长的关系

参照文献[50,51]方法测定了探针 SP1 在不同溶剂中的  $\delta_{\text{TPA}}$  值, 结果如图 5 所示. 探针 SP1 在非极性溶剂环己烷中的  $\delta_{\text{TPA}}$  值高达 6670 GM, 而在强极性非质子溶剂 (PAS) DMF 中的  $\delta_{\text{TPA}}$  值仅有 1450 GM. 通常, SP1 的  $\delta_{\text{TPA}}$  值在低 PAS 中比在高 PAS 中要大得多 (图 5 和表 S1), 如在丙酮和 DMF 这些强极性溶剂中,  $\Phi$  也相当低. 在丙酮或更强极性溶剂中发射强度的急剧减弱归因于光反应的缺失, 这与发射态 (激发态) 衰减至 1 个或多个可能的非共平面且非发射 TICT 态是一致的, 直至最终快速陨落至基态<sup>[44]</sup>.



**Fig.5** Two-photon absorption cross sections of SP1 (0.1  $\mu\text{mol/L}$ ) in various solvents vs. two-photon excited wavelengths

### 2.4 探针 SP1 用于活细胞黏度的双光子显微成像

2.4.1 小鼠成纤维细胞的培养 参照文献[36,52]方法进行成纤维细胞的培养.

2.4.2 细胞显微成像 设定双光子激发波长为 800 nm, 收集 600~650 nm 通道的荧光. 图 6(A) 为白光下的成纤维细胞照片; 图 6(B) 是在成纤维细胞培养基中加入 1  $\mu\text{mol/L}$  荧光探针分子 SP1 并在 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5% (体积分数)  $\text{CO}_2$  的细胞培养箱中孵育 1 h 后的照片. 所用仪器为共聚焦激光扫描显微镜, 20 倍目镜. 由图 6 可见, 黏度大的区域亮度较高, 表明 SP1 能够检测活细胞中的黏度大小且无细胞毒性. 由支持信息表 S1 可知, 表明 SP1 在 DMSO 和乙腈中的  $\Phi$  分别为 0.066 和 0.058, 已相当小; 由于  $\Phi$  随着溶剂极性的增大而减小, 在水中或细胞介质中则  $\Phi$  更小, 几乎看不到荧光, 因此可以排除溶剂极性对荧光的影响, 纯粹是黏度导致的荧光. 为进一步考察探针对黏度的成像性能, 将探针 SP1 与文献[53]报

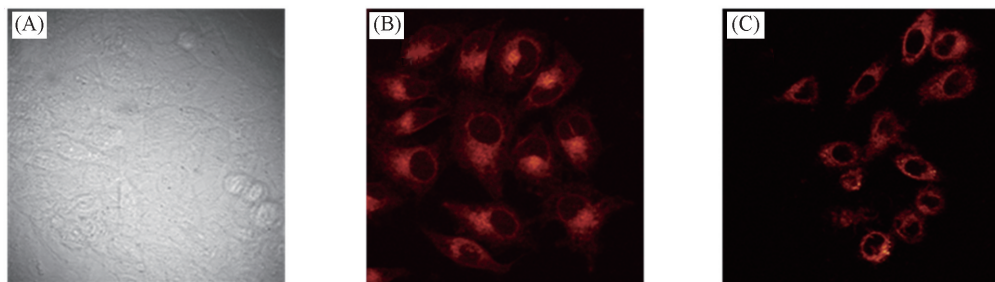


Fig.6 Bright-field two-photon excitation fluorescence image(A) and two-photon microscopy image of 1  $\mu\text{mol/L}$  SP1-labeled(B) and 4  $\mu\text{mol/L}$  X1-labeled(C) mouse fibroblast collected at 550—650 nm

The two-photon excitation fluorescence (TPEF) images were collected upon excitation at 800 nm with a femtosecond pulse. Cells shown were representative images from replicate experiments ( $n=5$ ).

道的细胞成像进行了对比. 如图 6(C) 所示, SP1 成像的亮度要高得多, 成像清晰度与准确度也明显增加.

采用体外四甲基偶氮唑盐 (MTT) 比色法检测了 SP1 的细胞毒性. 参照文献[54]方法进行细胞处理和 MTT 实验. 在 570 nm 处用全波长分子酶标仪 (光谱-max 190) 记录吸光度. 测得数据用 SoftMax Pro 软件 (第 5 版) 进行分析, 并以控制值的百分比表示, 结果如图 7 所示. 可见, 探针浓度 (0~50  $\mu\text{mol/L}$ ) 在远远高于成像浓度 (1  $\mu\text{mol/L}$ ) 时看不到细胞衰亡现象, 因此探针 SP1 对细胞几乎无毒害作用.

### 3 结 论

衍生于双氰基二苯代乙烯的双光子溶剂生色探针 (SP1) 具有较大的双光子吸收截面, 其在环己烷和 DMSO 中的最大双光子吸收截面分别为 6670 和 2040  $\text{GM}$ ; 并具有宽的溶剂生色范围 (152 nm), 在环己烷和 DMSO 中的最大发射波长分别为 452 和 604 nm; 对溶剂极性与黏度有极强的敏感性, 能用于极性、黏度的检测以及细胞黏度成像. 溶剂生色探针 SP1 还兼具小的分子尺寸、近红外发射波长 (DMSO 中为 604 nm) 和超大斯托克斯位移 (194 nm), 其光稳定性、水溶性和细胞渗透性均较优良.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20180157>.

### 参 考 文 献

- [1] Su J., Huang S. S., He S., Zeng X. S., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2016**, 32(1), 20—27
- [2] Bohne C., Ihmels H., Waidelich M., Yihwa C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127(49), 17158—17159
- [3] Uchiyama S., Takehira K., Yoshihara T., Tobita S., Ohwada T., *Organic Letters*, **2006**, 8(25), 5869—5872

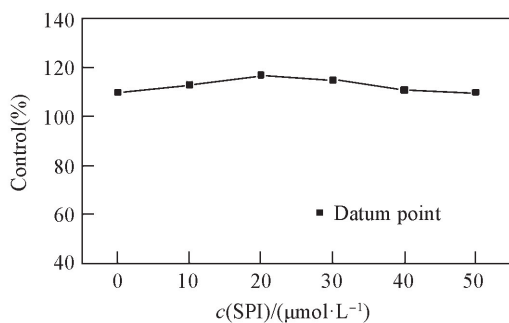


Fig.7 Response curve of fibroblast to SP1 dose from 0 to 50  $\mu\text{mol/L}$  for 24 h

Data presented as percentage of control ( $n=3$ )  $\pm$ SD, SD: standard deviation,  $P<0.01$ .

- [ 4 ] Sutharsan J., Lichlyter D., Wright N. E., Dakanali M., Haidekker M. A., Theodorakis E. A., *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 2582—2588
- [ 5 ] Droumaguet C. L., Mongin O., Werts M. H. V., Blanchard-Desce M., *Chem. Commun.*, **2005**, *41*(22), 2802—2804
- [ 6 ] Strehmel B., Sarker A. M., Detert H., *ChemPhysChem*, **2003**, *4*, 249—259
- [ 7 ] Kim H. M., Jeong B. H., Hyon J. Y., An M. J., Seo M. S., Hong J. H., Lee K. J., Kim C. H., Joo T., Hong S. C., Cho B. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*(13), 4246—4247
- [ 8 ] Kim H. M., Choo H. J., Jung S. Y., Ko Y. G., Park W. H., Jeon S. J., Kim C. H., Joo T., Cho B. R., *ChemBioChem*, **2007**, *8*(5), 553—559
- [ 9 ] Gers-Panther C. F., Fischer H., Nordmann J., Seiler T., Behnke T., Würth C., Frank W., Resch-Genger U., Müller T. J. J., *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*(1), 567—578
- [ 10 ] Okada Y., Sugai M., Chiba K., *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*(22), 10922—10929
- [ 11 ] Appelqvist H., Stranius K., Börjesson K., Nilsson K. P. R., Dyrager C., *Bioconjugate Chem.*, **2017**, *28*(5), 1363—1370
- [ 12 ] Gopikrishna P., Adil L. R., Iyer P. K., *Mater. Chem. Front.*, **2017**, *1*, 2590—2598
- [ 13 ] Mata G., Luedtke N. W., *Org. Lett.*, **2013**, *15*(10), 2462—2465
- [ 14 ] Xie X., Gutiérrez A., Trofimov V., Szilagyí I., Soldati T., Bakker E., *Anal. Chem.*, **2015**, *87*(19), 9954—9959
- [ 15 ] Liu H., Xu X., Shi Z., Liu K., Fang Y., *Anal. Chem.*, **2016**, *88*(20), 10167—10175
- [ 16 ] Yamashita H., Abe J., *J. Phys. Chem. A*, **2014**, *118*(8), 1430—1438
- [ 17 ] Mukhopadhyay A., Mandal K. J., Moorthy J. N., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2018**, doi: 10.1039/c7cp06766f
- [ 18 ] Kothavale S., Sekar N., *Dyes and Pigments*, **2017**, *136*, 116—130
- [ 19 ] Warde U., Nagaiyan S., *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, **2017**, *337*, 33—43
- [ 20 ] Vyšniauskas A., López-Duarte I., Duchemin N., Vu T. T., Wu Y., Budynina E. M., Volkova Y. A., Cabrera E. P., Ramírez-Ornelas D. E., Kuimova M. K., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2017**, *19*, 25252—25259
- [ 21 ] Ikejiri M., Mori K., Miyagi R., Konishi R., Chihara Y., Miyashita K., *Org. Biomol. Chem.*, **2017**, *15*, 6948—6958
- [ 22 ] Wang F., DeRosa C. A., Daly M. L., Song D., Sabat M., Fraser C. L., *Mater. Chem. Front.*, **2017**, *1*, 1866—1874
- [ 23 ] Zhang Y., Liang C., Jiang S., *New J. Chem.*, **2017**, *41*, 8644—8649
- [ 24 ] Suhina T., Amirjalayer S., Woutersen S., Bonn D., Brouwer A. M., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2017**, *19*, 19998—20007
- [ 25 ] Kothavale S., Sekar N., *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 105387—105397
- [ 26 ] Sasaki S., Drummen G. P. C., Konishi G. I., *J. Mater. Chem. C*, **2016**, *4*, 2731—2743
- [ 27 ] Koenig M., Storti B., Bizzarri R., Guldi D. M., Brancato G., Bottari G., *J. Mater. Chem. C*, **2016**, *4*, 3018—3027
- [ 28 ] Karpenko I. A., Niko Y., Yakubovskiy V. P., Gerasov A. O., Bonnet D., Kovtun Y. P., Klymchenko A. S., *J. Mater. Chem. C*, **2016**, *4*, 3002—3009
- [ 29 ] Vu T. T., Méallet-Renault R., Clavier G., Trofimov B. A., Kuimova M. K., *J. Mater. Chem. C*, **2016**, *4*, 2828—2833
- [ 30 ] Jung H. S., Verwilt P., Kim W. Y., Kim J. S., *Chem. Soc. Rev.*, **2016**, *45*, 1242—1256
- [ 31 ] Klymchenko A. S., *Acc. Chem. Res.*, **2017**, *50*(2), 366—375
- [ 32 ] Fares M., Li Y., Liu Y., Miao K., Gao Z., Zhai Y., Zhang X., *Bioconjugate Chem.*, **2018**, *29*(1), 215—224
- [ 33 ] Ibarra-Rodríguez M., Muñoz-Flores B. M., Dias H. V. R., Sánchez M., Gomez-Treviño A., Santillan R., Farfán N., Jiménez-Pérez V. M., *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*(5), 2375—2385
- [ 34 ] Liu G. H., Qiu X. P., Siddiq M., Bo S. Q., Ji X. L., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2013**, *29*(5), 1022—1028
- [ 35 ] Huang C. B., Liang X., Zeng Q. H., Chen H. S., Zeng B. P., Yi D. S., Chen X. Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2015**, *36*(4), 646—653(黄池宝, 梁兴, 曾启华, 陈华仕, 曾伯平, 易道生, 陈晓远. 高等学校化学学报, **2015**, *36*(4), 646—653)
- [ 36 ] Huang C. B., Chen H. S., Zeng B. P., Chen X. Y., *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **2015**, *43*(4), 507—511(黄池宝, 陈华仕, 曾伯平, 陈晓远. 分析化学, **2015**, *43*(4), 507—511)
- [ 37 ] Huang C. B., Pan Q., Chen X. Y., Zhao G. L., Chen H. S., Liang X., Lü G. L., *Chem. J. Chinese Universities*, **2017**, *38*(10), 646—653(黄池宝, 潘淇, 陈晓远, 赵光练, 陈华仕, 梁兴, 吕国岭. 高等学校化学学报, **2017**, *38*(10), 646—653)
- [ 38 ] Huang C. B., Pan Q., Chen H. S., Liang X., Lv G. L., *Chem. J. Chinese Universities*, **2018**, *39*(5), 646—653(黄池宝, 潘淇, 陈华仕, 梁兴, 吕国岭. 高等学校化学学报, **2018**, *39*(5), 646—653)
- [ 39 ] Huang H., He Q., Lin H., Bai F., Sun Z., Li Q., *Polym. Adv. Technol.*, **2004**, *15*(1—2), 84—88
- [ 40 ] Huang C. B., Fan J. L., Peng X. J., Lin Z. Y., Guo B. P., Ren A. X., Cui J. Q., Sun S. G., *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, **2008**, *199*(2/3), 144—149
- [ 41 ] Baker III T. N., Jr. Doherty W. P., Kelley W. S., Newmeyer W., Jr. Rogers J. E., Spalding R. E., Walter R. I., *J. Org. Chem.*, **1965**, *30*(11), 3714—3718
- [ 42 ] Bent D. V., Soehle-Frohlinde D., *J. Phys. Chem.*, **1974**, *78*(4), 446—450
- [ 43 ] Schanze K. S., Shin D. M., Whitten D. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*(2), 507—509

- [44] Shin D. M., Whitten D. G., *J. Phys. Chem.*, **1988**, 92(10), 2945—2956
- [45] Lewis F. D., Sinks L. E., Weigel W., Sajimon M. C., Crompton E. M., *J. Phys. Chem. A*, **2005**, 109(11), 2443—2451
- [46] Jager W. F., Volkers A. A., Neckers D. C., *Macromolecules*, **1995**, 28(24), 8153—8158
- [47] Loutfy R. O., Law K. Y., *J. Phys. Chem.*, **1980**, 84(21), 2803—2808
- [48] Förster T., Hoffmann G., *Z. Phys. Chem.*, **1971**, 75(1/2), 63—75
- [49] Sutharsan J., Lichlyter D., Wright N. E., Dakanali M., Haidekker M. A., Theodorakis E. A., *Tetrahedron*, **2010**, 66(14), 2582—2588
- [50] Huang C. B., Ren A. X., Li H. B., Yang N. F., *Chem. J. Chinese Universities*, **2010**, 31(11), 2222—2227(黄池宝, 任安祥, 李海渤, 阳年发. 高等学校化学学报, **2010**, 31(11), 2222—2227)
- [51] Huang C. B., Ren A. X., *Acta Chimica Sinica*, **2007**, 65(23), 2765—2770(黄池宝, 任安祥. 化学学报, **2007**, 65(23), 2765—2770)
- [52] Huang C. B., Zhang D. H., Zeng B. P., Liu Q. B., Chen H. S., Kang S., Chen X. Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2018**, 37(4), 638—642(黄池宝, 张道海, 曾伯平, 刘其斌, 陈华仕, 康帅, 陈晓远. 高等学校化学学报, **2016**, 37(4), 638—642)
- [53] Xie X. J., Gutiérrez A., Trofimov V., Szilagyí I., Soldati T., Bakker E., *Anal. Chem.*, **2015**, 87, 9954—9959
- [54] Fotakis G., Timbrell J. A., *Toxicology Letters*, **2006**, 160, 171—177

## Triphenylamine-based Dicyanostilbene Type Two-photon Fluorescence Solvatochromic Probe<sup>†</sup>

HUANG Chibao<sup>\*</sup>, PAN Qi, CHEN Huashi, LIANG Xing, LÜ Guoling

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Zunyi Normal University, Zunyi 563002, China)

**Abstract** Using the diphenylamino group as the electron donor, the cyano group as the electron acceptor, and the dicyanostilbene as a two-photon fluorophore, a novel two-photon fluorescence solvatochromic probe (SP1) was developed by means of the structure-activity relationship of D- $\pi$ -A (D: electron donor, A: electron acceptor) electron architecture. The structure was characterized and identified by means of nuclear magnetic resonance spectra and element analysis instrument. SP1 showed a wide range of 152 nm in solvent solvatochromism, the maximum emission wavelengths in cyclohexane and dimethylsulfoxide (DMSO) were 452 and 604 nm, respectively. It can be used for the detection of solvent polarity and viscosity. Solvents can also be identified according to maximum emission wavelengths. SP1 had a large two-photon absorption cross section, the maximum two-photon absorption cross-sections in cyclohexane and DMSO were 6670 and 2040 GM, respectively, and also had a large Stokes shift (194 nm). Its photostability, water solubility and cell permeability were excellent. The probe can be used for the measurement and imaging of cell viscosity.

**Keywords** Two-photon fluorescence solvatochromic sensor; Solvent polarity; Viscosity; Cell-imaging

(Ed.: P, H, F, K)

<sup>†</sup> Supported by the High-level Innovative Talents Training Project—Hundred Talents Program of Guizhou Province, China (No. [2016] 5683), the National Natural Science Foundation of China (No. 21562050), the Special Fund Project of the Construction of the Eighth Batch of Scientific and Technological Innovation Talent Team in Guizhou Province, China [No. (2015)4007], the Science and Technology Fund Project of Guizhou Province, China (No. J[2015]2146), the Key Project of Education Department of Guizhou Province, China (No. KY[2014]296), the Teaching Contents and Curriculum System Reform Project of Higher Education in Guizhou Province, China (No. KY[2014]JXGChen), the Project of "15851 Talents Elite Project" in Zunyi City, China (No. [2015]4007) and the Science and Technology Project of Honghuagang District of Zunyi City, China (No. [2015]18).