

一种罗丹明衍生物的合成及其对三价金属离子(Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 和 Al^{3+})的识别

侯淑华 刘冬 曲忠国 钟克利 边延江 汤立军*

(渤海大学化学化工学院 辽宁 锦州 121013)

摘要 三价金属离子(Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+})与人体健康密切相关。目前,检测 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 需要采用不同的荧光探针,增加了检测成本和检测时间。发展能够同时检测 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 的高灵敏度和强抗干扰能力的荧光探针具有非常重要的意义。本文以罗丹明B为原料,合成和表征了一种罗丹明类荧光增强型探针(**P**),并研究了其光谱性质。研究表明,在 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=9:1$ 体系中对三价金属离子 Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 和 Al^{3+} 具有较高的选择性,不受其它二价金属离子及一价金属离子的影响,抗干扰能力强。同时,探针**P**对三价金属离子具有较高的灵敏度,对 Cr^{3+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 的检测限分别为 3.0×10^{-4} 、 2.7×10^{-4} 和 1.0×10^{-4} mol/L,表明其可用于 Cr^{3+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 的检测。

关键词 罗丹明;探针;三价金属离子

中图分类号:O621

文献标识码:A

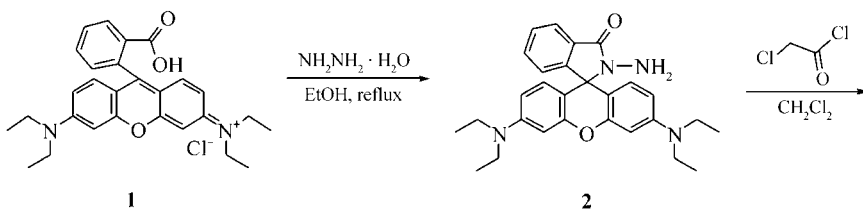
文章编号:1000-0518(2017)05-0606-05

DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2017.05.160475

三价金属离子(Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 和 Al^{3+})在自然界中广泛存在,影响人类健康。 Al^{3+} 虽然不属于人体所必需的微量元素,但平时过多摄入 Al^{3+} 会对人体的造血系统、免疫系统、肝、肾造成不良影响^[1-2];参与人体细胞新陈代谢的 Fe^{3+} 的失衡会引发肾衰竭、贫血、肝功能不全等疾病^[3-5];人体内 Cr^{3+} 的失衡会破坏人体正常细胞结构,引发动脉硬化和糖尿病^[6-7],对人体造成伤害。因此,建立检测以上3种金属离子的方法具有非常重要的意义。

具有灵敏度高、选择性好、响应时间短的荧光分子探针已被广泛应用于重金属离子和过渡金属离子的检测。罗丹明类荧光探针由于具有易于合成、荧光量子产率高、吸收波长较长等特点而被广泛应用于各种金属离子如 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Ag^{+} 的检测。然而,这些荧光探针多用于检测单种金属离子,功能单一^[8-14];同时,具有顺磁性的 Fe^{3+} 和 Cr^{3+} 导致大多数荧光探针表现为荧光淬灭型探针,降低了检测灵敏度^[15]。检测 Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 和 Al^{3+} 需要采用不同的荧光探针及不同的测试体系,增加了检测难度及检测成本。目前,具有高灵敏度和高选择性的能够同时检测 Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 和 Al^{3+} 的荧光增强型探针仍然较少^[16]。

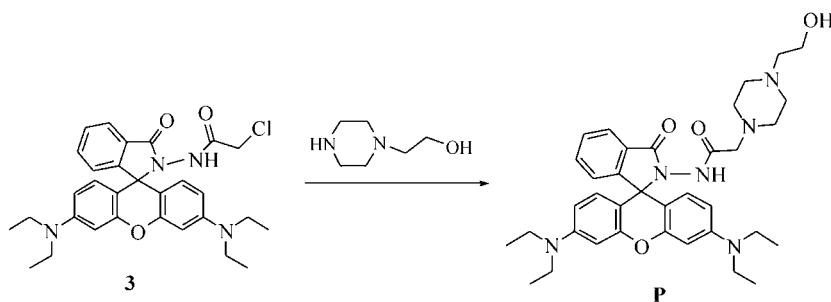
本文以罗丹明B为起始原料,合成罗丹明B酰肼,后将羟乙基哌嗪引入到分子中。合成的分子中含有O、N等元素,具有优异的配位能力,实现了一种荧光探针对 Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 和 Al^{3+} 的同时识别。探针**P**的合成路线见Scheme 1。



2016-11-25 收稿,2017-01-23 修回,2017-02-23 接受

国家自然科学基金项目(21476029, U1608222);辽宁省高等学校优秀人才支持计划资助(LR2015001)

通讯联系人:汤立军,教授; Tel:0416-3400302; E-mail:bhutang@126.com; 研究方向:荧光探针

Scheme 1 Synthesis of probe **P**

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

400 NMR 型核磁共振仪(美国 Agilent 公司);Bruker attoflex III smartbeam 型基质辅助飞行时间质谱仪(MALDITOF MS,德国布鲁克公司);970CRT 型荧光分光光度计(上海三科仪器有限公司)。

苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(HBTU)、二异丙基乙胺(DIPEA)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)均购自于上海阿拉丁生化科技股份有限公司,其它试剂均为国产市售分析纯。所有溶剂均为无水溶剂。金属离子溶液用其硝酸盐或者氯化物盐溶于去离子水制得。

1.2 实验方法

化合物 **1**~**3** 参照文献[17]报道的方法合成。

将化合物 **3**(450 mg,0.9 mmol)放于烧瓶中,加入 20 mL 干燥的乙腈。向上述溶液中加入 *N*-羟乙基哌嗪(150 mg,1.1 mmol)、KI(90 mg,0.8 mmol)和二异丙基乙胺(DIPEA,1.0 mL)。在回流和 N_2 气保护条件下,反应 12 h。反应结束后,将所得物冷却至室温,旋转蒸发仪减压蒸馏掉溶剂乙腈,采用柱层析分离,得到白色固体,收率为 80.6%。 ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3), δ : 8.34(s,1H), 7.99(dd, $J_1 = 6.9$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz,1H), 7.58~7.48(m,2H), 7.16(d, $J = 6.9$ Hz,1H), 6.68~6.66(m,2H), 6.39~6.28(m,3H), 3.60~3.59(m,2H), 3.43~3.26(m,8H), 3.00~2.99(m,2H), 2.48~2.28(m,10H), 1.18(t, $J = 6.9$ Hz,12H); ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3), δ : 167.5, 165.2, 153.5, 151.4, 148.9, 133.1, 129.4, 129.3, 128.4, 124.1, 123.3, 108.0, 104.0, 97.2, 66.0, 60.3, 59.0, 57.5, 53.0, 52.9, 44.3, 12.6; HRMS(ESI^+) 计算值 $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_4[\text{M} + \text{H}]^+$: 627.3581, 实测值: m/z 627.3641。

1.3 荧光光谱测定

荧光光谱的测定按照已报道的方法^[18]。测试条件:室温,石英比色皿(1 cm×1 cm×4 cm),灵敏度 4,激发狭缝宽 5 nm,发射狭缝宽 2 nm,激发波长 λ_{ex} 为 530 nm,荧光检测范围为 550~750 nm。

2 结果与讨论

2.1 化合物 **P** 对金属离子的选择性识别

为确定化合物 **P** 对金属离子的识别性能,选择 Ag^+ 、 Ba^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^+ 、 Ni^+ 、 Pb^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 为研究对象。在含有 **P**(10 $\mu\text{mol/L}$)的 $V(\text{甲醇}):V(\text{水}) = 9:1$ (Tris = 10 mmol/L, pH = 7.2) 的溶液中,加入金属离子,发现当加入 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 时,在 588 nm 处有新的荧光特征峰出现,同时溶液迅速变为粉红色,在紫外灯照射条件下发橙色荧光,而探针本身及加入其它金属离子无此现象(图 1)。结果表明,探针 **P** 具有高选择性识别 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 的特性。

2.2 共存离子的影响

进一步考察了共存金属离子对荧光吸收强度影响(图 2)。相同条件下,在 Cr^{3+} 和化合物 **P** 的溶液中加入相同于 Cr^{3+} 浓度的共存金属离子(Ag^+ 、 Ba^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^+ 、 Ni^+ 、 Pb^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Zn^{2+}),体系的荧光强度几乎没有变化,表明探针 **P** 对 Cr^{3+} 的识别不受共存离子的干扰。同样,对 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 具有类似的结果,不受其它共存离子的影响(见辅助材料 Fig. S1 和 Fig. S2)。以

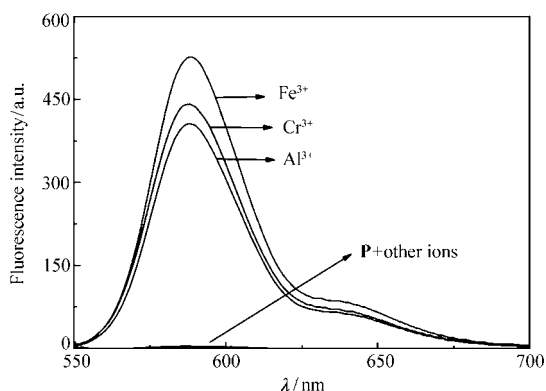


图1 化合物 **P** 对金属离子的选择性(化合物 **P** 的浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$)

Fig. 1 Fluorescence response of probe **P** (10 $\mu\text{mol/L}$) to different metallic ions

$\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$

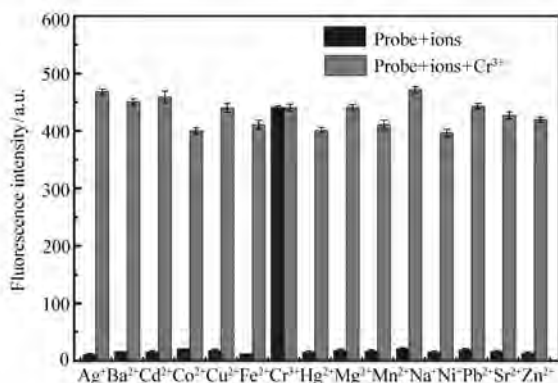


图2 其它金属离子和 Cr^{3+} 共存时探针 **P** (10 $\mu\text{mol/L}$) 在 $V(\text{甲醇}):V(\text{Tris-HCl}) = 9:1$ 的荧光发射光谱的变化

Fig. 2 Fluorescence emission spectrum of probe **P** (10 $\mu\text{mol/L}$) to Cr^{3+} upon addition of various metallic ions in $V(\text{CH}_3\text{OH}):V(\text{Tris-HCl}) = 9:1$ solution

$\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$

上结果说明,探针 **P** 具有较强的抗干扰能力。

2.3 化合物 **P** 对 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 的荧光滴定及检测限的计算

在 $V(\text{甲醇}):V(\text{Tris-HCl}) = 9:1$ 体系中,研究发现,探针 **P** 的荧光强度与 Cr^{3+} 浓度有良好的线性关系,线性相关系数大于 0.99,表明化合物 **P** 可以用于 Cr^{3+} 的定量检测(图3)。 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 也具有类似的结果,当 Fe^{3+} 浓度为化合物 **P** 浓度的 70 倍、 Al^{3+} 浓度为化合物 **P** 浓度的 70 倍时达到最高值(见辅助材料 Fig. S3 和 Fig. S4)。其中化合物 **P** 对 Cr^{3+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 的荧光检测限分别为 3.0×10^{-4} 、 2.7×10^{-4} 和 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。

2.4 pH 值对荧光光谱的影响

罗丹明类荧光探针荧光响应会受到溶液 pH 值影响。我们测定了在 $V(\text{CH}_3\text{OH}):V(\text{Tris-HCl}) = 9:1$ 溶液中不同 pH 值条件下荧光强度变化。探针 **P** 及 $\text{P} + \text{M}^{3+}$ 分别在其最大发射波长(588 nm)处的荧光强度随 pH 值变化见图4。由图4可知,在 pH 值 2 ~ 10 范围内探针 **P** 几乎荧光;在 pH 值为 3 ~ 7 之间,加入三价金属离子的体系荧光强度大幅度增强。因此,可以在弱酸性和中性条件下利用探针 **P** 实现对 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 的检测。

2.5 探针 **P** 与三价金属离子络合机理

为了研究探针识别三价金属离子的机理,采用等物质的量连续变化法(Job's Plot)探讨二者的结合比。体系在最大荧光吸收 588 nm 处的荧光强度随 Cr^{3+} 摩尔分数变化如图5所示。当 Cr^{3+} 摩尔分数为 0.7 时,探针 **P** 与 Cr^{3+} 形成的络合物在 588 nm 处出现最大的荧光强度,表明探针 **P** 与 Cr^{3+} 的结合比为 1:2。同样的, Al^{3+} 和 Fe^{3+} 也有类似的结果,结合比为 1:2(见辅助材料 Fig. S5 和 Fig. S6)。推测探针 **P** 识别三价金属离子的机理可能如图6所示。无金属离子存在条件下,探针 **P** 无荧光,保持内酰胺稳定结构;加入三价金属离子(Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+})后,三价金属离子与探针络合使内酰胺开环同时发出橙色荧光。

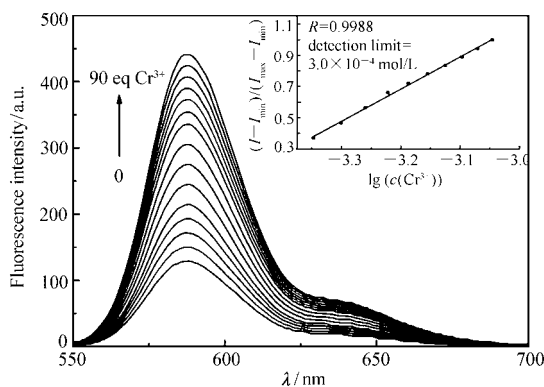


图3 探针 **P** (10 $\mu\text{mol/L}$) 中加入不同浓度 Cr^{3+} 后的荧光发射光谱

Fig. 3 Fluorescence emission spectrum of probe **P** upon addition of different amounts of Cr^{3+}

$\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$

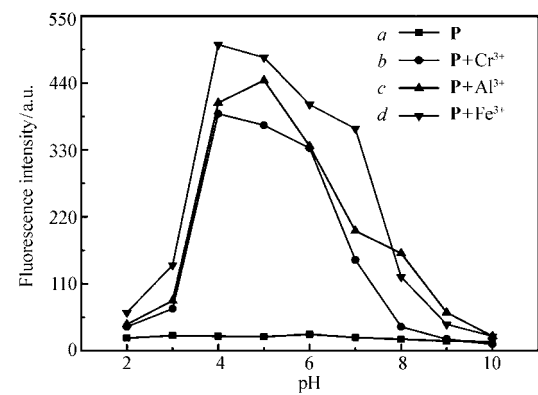


图4 在三价金属离子存在或不存在的条件下,探针 **P** (10 $\mu\text{mol/L}$) 荧光强度随 pH 值的变化

Fig.4 Changes in fluorescence intensity of probe **P** (10 $\mu\text{mol/L}$) at different pH in the absence and presence of trivalent metallic ions

$\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$

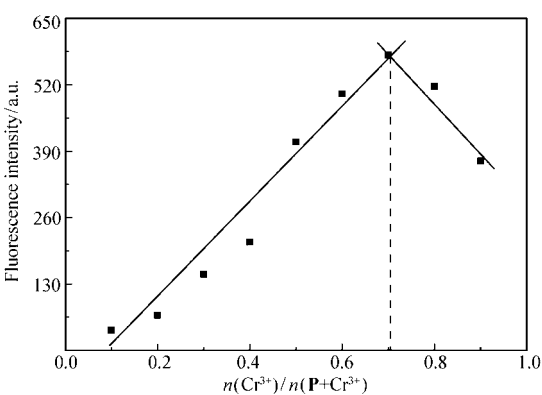


图5 探针 **P** 和 Cr^{3+} 的 Job 曲线
Fig.5 Job's plot of probe **P** and Cr^{3+}
 $\lambda_{\text{ex}} = 530 \text{ nm}$

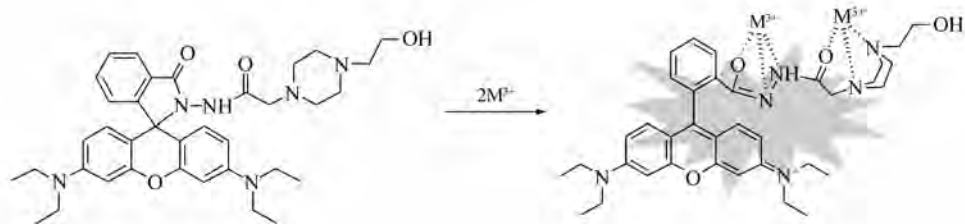


图6 探针 **P** 与三价金属离子 M^{3+} (Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Cr^{3+}) 可能的络合方式

Fig.6 Proposed binding mode of probe **P** with trivalent metallic ions M^{3+} (Fe^{3+} , Al^{3+} and Cr^{3+})

3 结 论

目前检测 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 需要采用不同的荧光探针和不同的测试体系,增加了检测难度和检测成本。本文成功合成了一种罗丹明类荧光探针(**P**),并对其结构进行了表征。测定了探针 **P** 在甲醇和水混合体系中的荧光光谱。研究发现,荧光探针 **P** 对三价金属离子(Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Al^{3+})具有较高的选择性、灵敏度和抗干扰能力,不受其它一价金属离子和二价金属离子的干扰。基于探针 **P** 与三价金属离子螯合开环的荧光增强效应,建立了检测三价金属离子 Cr^{3+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 的荧光分析方法。

辅助材料(Supporting Information)[共存离子对探针 **P** 识别 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 的影响、 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 对探针 **P** 的荧光滴定数据及 Fe^{3+} 和 Al^{3+} 与探针 **P** 的结合比数据]可以免费从本刊网站(<http://yyhx.ciac.jl.cn/>)下载。

参 考 文 献

[1] Perl D P, Gajdusek D C, Garruto R M, et al. Intraneuronal Aluminum Accumulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Parkinsonism-Dementia of Guam[J]. *Science*, 1982, **217**(4564):1053-1055.
[2] Crapper D, Krishnan S, Dalton A. Brain Aluminum Distribution in Alzheimer's Disease and Experimental Neurofibrillary Degeneration[J]. *Science*, 1973, **180**(4085):511-513.
[3] Pithadia A S, Lim M H. Metal-associated Amyloid- β Species in Alzheimer's Disease[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2012, **16**(1):67-73.
[4] Weizman H, Ardon O, Mester B, et al. Fluorescently-labeled Ferrichrome Analogs as Probes for Receptor-mediated, Microbial Iron Uptake[J]. *J Am Chem Soc*, 1996, **118**(49):12368-12375.
[5] Touati, D. Iron and Oxidative Stress in Bacteria[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, **373**(1):1-6.
[6] Singh A K, Gupat V, Gupta B. Chromium(III) Selective Membrane Sensors Based on Schiff Bases as Chelating Ionophores[J]. *Anal Chim Acta*, 2007, **585**(1):171-178.

- [7] Vincent J B. Quest for the Molecular Mechanism of Chromium Action and Its Relationship to Diabetes[J]. *Nutr Rev*, 2000, **58**(3):67-72.
- [8] Lv Y, Zhu L, Liu H, *et al.* Single-fluorophore-based Fluorescent Probes Enable Dual-channel Detection of Ag^+ and Hg^{2+} with High Selectivity and Sensitivity[J]. *Anal Chim Acta*, 2014, **839**(1):74-82.
- [9] Zhan S, Xu H, Zhang D, *et al.* Fluorescent Detection of Hg^{2+} and Pb^{2+} Using Gene Finder(TM) and an Integrated Functional Nucleic Acid[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, **72**(68):95-99.
- [10] Maiti S, Aydin Z, Zhang Y, *et al.* Reaction-based Turn-On Fluorescent Probes with Magnetic Responses for Fe^{2+} Detection in Live Cells[J]. *Dalton Trans*, 2015, **44**(19):8942-8949.
- [11] Prabhu J, Velmurugan K, Nandhakumar R. Pb^{2+} Ion Induced Self-assembly of Anthracene Based Chalcone with a Fluorescence Turn on Process in Aqueous Media[J]. *J Anal Chem*, 2015, **70**(8):943-948.
- [12] Antony E J, Raj M, Paulpandi R Q, *et al.* A Highly Selective Fluorescent Sensor for Pb^{2+} Based on a Modified Beta-cyclodextrin[J]. *J Fluoresc*, 2015, **25**(4):1031-1036.
- [13] Geng T M, Wu D Y, Huang W, *et al.* Fluorogenic Detection of Hg^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} Cations in Aqueous Media by Means of an Acrylamide-acrylic Acid Copolymer Chemosensor with Pendant Rhodamine-based Dyes[J]. *J Polym Res*, 2014, **21**(3):354-361.
- [14] Azadbakht R, Vaisi H, Mohamadvand H, *et al.* A New Fluorescent Chemosensor for Pb^{2+} Ions Based on Naphthalene Derivatives[J]. *Spectrochim Acta A*, 2015, **145**:575-579.
- [15] Mao J, Wang L N, Dou W, *et al.* Tuning the Selectivity of Two Chemosensors to Fe^{3+} and Cr^{3+} [J]. *Org Lett*, 2007, **9**(22):4567-4570.
- [16] Cherreddy N R, Nagaraju P, Raju M V, *et al.* A Novel FRET ‘Off-On’ Fluorescent Probe for the Selective Detection of Fe^{3+} , Al^{3+} and Cr^{3+} Ions: Its Ultrafast Energy Transfer Kinetics and Application in Live Cell Imaging [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, **68**:749-756.
- [17] Hou S H, Qu Z G, Zhong K L, *et al.* A New Rhodamine-based Visual and Fluorometric Probe for Selective Detection of Trivalent Cations[J]. *Tetrahedron Lett*, 2016, **57**(24):2616-2619.
- [18] HOU Shuhua, QU Zhongguo, ZHONG Keli, *et al.* Synthesis of a Novel Benzothiazole-Rhodamine Derivative and Its Selective Detection of Fe^{3+} , Al^{3+} and Cr^{3+} [J]. *Chinese J Org Chem*, 2016, **36**(4):768-773 (in Chinese).
侯淑华, 曲忠国, 钟克利, 等. 一种苯并噻唑-罗丹明衍生物的合成及其对 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 的识别[J]. *有机化学*, 2016, **36**(4):768-773.

Synthesis of a Novel Rhodamine-Based Probe and Its Selective Detection of Trivalent Metallic Ions

HOU Shuhua, QU Zhongguo, ZHONG Keli, BIAN Yanjiang, TANG Lijun*

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Bohai University, Jinzhou, Liaoning 121013, China)

Abstract Trivalent metallic ions (Cr^{3+} , Fe^{3+} and Al^{3+}) play important roles in environment and human health. It is exhausting using different sensor in different conditions for detection of all the trivalent metallic ions. Single probes for detecting all of these trivalent metallic cations simultaneously with high sensitivity and selectivity have attracted great attention. A novel rhodamine-based probe **P** was synthesized from rhodamine B. It is showed that probe **P** acts as a “turn on” fluorescent probe for trivalent metallic ions (Fe^{3+} , Cr^{3+} and Al^{3+}) recognition. Probe **P** is highly selective to trivalent metallic ions over other monovalent or divalent metallic ions in $V(\text{CH}_3\text{OH}):V(\text{Tris-HCl}) = 9:1$. Furthermore, probe **P** is highly sensitive to trivalent metallic ions. The detection limits of probe **P** for Cr^{3+} , Al^{3+} and Fe^{3+} are 3.0×10^{-4} , 2.7×10^{-4} and 1.0×10^{-4} mol/L, respectively. Probe **P** could be used in the detection of Cr^{3+} , Al^{3+} and Fe^{3+} .

Keywords rhodamine; probe; trivalent ions

Received 2016-11-25; Revised 2017-01-23; Accepted 2017-02-23

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21476029, No. U1608222), Program for Liaoning Excellent Talents in University (No. LR2015001)

Corresponding author: TANG Lijun, professor; Tel: 0416-3400302; E-mail: bhutang@126.com; Research interests: fluorescent probe