

## 双探针基团(DPG)聚氰分子对 $Al^{3+}$ 识别机理研究

宁晓钰<sup>1</sup>, 魏刚<sup>2</sup>, 光善仪<sup>1\*</sup>, 赵岗<sup>2</sup>, 徐洪耀<sup>2,3</sup>

1. 东华大学化学化工与生物工程学院, 上海 201620
2. 东华大学材料科学与工程学院和纤维材料改性国家重点实验室, 上海 201620
3. 东华大学分析测试中心, 上海 201620

**摘要** 铝在人体中的代谢极其缓慢, 摄入的铝会在体内不断积累, 而异常浓度的  $Al^{3+}$  会破坏中枢神经系统, 导致严重的神经性疾病, 因此如何高效灵敏地检测  $Al^{3+}$  至关重要。荧光探针因具有携带方便、检测快速简单、价格低廉、选择性好等显著优点被广泛用于分析检测金属离子。大量研究中对于  $Al^{3+}$  的检测都是以单探针基团(single-probe group, SPG)分子以 1:1, 2:1, 3:1 等进行配位。本文研究了一种活性三聚氰氰作为连接桥基团, 罗丹明 B 酰胺和席夫碱衍生物对氨基苯甲酰水杨酸作为双探针基团(dual-probe group, DPG)的聚氰分子(RBCS), 其采用易于控制的热动力学方法一步法制备得到。固定 RBCS+ $Al^{3+}$  的浓度总和为  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 改变二者的浓度比, 通过 Job-plot 光学实验研究表明当离子占总浓度的比例在约 0.68 时 578 nm 处的荧光强度达到最高值, 表明 RBCS 与  $Al^{3+}$  之间主要以 1:2 进行配位。通过 MALDI-TOF-MASS 研究发现, 相比无  $Al^{3+}$  的谱图, RBCS- $Al^{3+}$  在 900.07 附近出现的新峰进一步验证了该 DPG 聚氰分子(RBCS)和  $Al^{3+}$  是以 1:2 发生络合。通过探针 RBCS(10 mg)中加入 0, 0.5, 1, 2, 3 当量  $Al^{3+}$  后的  $^1\text{H}$  NMR 滴定实验, 对比特征 H 位置的变化, 详细研究出 RBCS 对  $Al^{3+}$  的识别机理。研究表明当  $Al^{3+}$  存在时,  $Al^{3+}$  与 RBCS 上罗丹明酰胺部分羰基 O, 胺基 N 和三氰上 N 发生络合导致罗丹明酰胺开环, 同时席夫碱部分的亚胺基团的 N 以及羧酸根和酚基的两个 O 也分别和  $Al^{3+}$  结合, 使得 C=N 键得到固化, 整体的共轭性增加, 从而产生荧光。综上所述, 该聚氰分子(RBCS)可作为识别  $Al^{3+}$  的双探针基团分子。在 365 nm 紫外灯照射下 RBCS- $Al^{3+}$  表现出橙红色荧光, 并随着  $Al^{3+}$  浓度的增加荧光逐渐增强。通过对 RBCS 光学性能测试条件的优化, 最终选定在乙醇/水(99/1, V/V)溶液进行光学性能研究。通过荧光滴定实验测试了在激发波长 557 nm, 发射波长 578 nm 下 RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对不同浓度  $Al^{3+}$  (0.01~8 eq) 的荧光强度变化, 并对数据做线性回归处理, 方程为  $y = 32.336 0 + 65.364 1x$ ,  $R^2 = 0.993 3$ , 线性范围为  $1 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过  $3\sigma/k$  算得 RBCS 对  $Al^{3+}$  的检出限为  $15.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究可为设计 DPG 分子用于金属离子的检测提供参考。

**关键词**  $Al^{3+}$ ; 双探针基团; 识别机理; 罗丹明-席夫碱衍生物

**中图分类号:** O643.12 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)01-0080-05

## 引言

铝元素对环境和生物系统至关重要, 同时也是地壳中最丰富的金属元素, 因此被广泛用于我们的日常生活中, 如铝基药品、储藏制品和炊饮用具等, 由于铝箔和容器的频繁使用, 引起食品中铝浓度适度增加进而导致了人体吸收  $Al^{3+}$  的风险增加。当人摄入  $Al^{3+}$  过高, 可引起大脑神经的退化, 记

忆力衰退, 智力和性格也深受影响, 甚至呈现老年性痴呆<sup>[1-2]</sup>, 骨软化, 脑病和阿尔茨海默病等。高剂量铝可抑制体外培养的人胚成骨细胞的生长发育, 并对其产生一定的毒性作用。同时高剂量铝不仅对人体毒害严重, 对植物的有机酸分泌、细胞活动、酶活性光合作用等生理活动也会造成不良影响<sup>[3-4]</sup>; 因此,  $Al^{3+}$  的检测便成为分析工作者关注的焦点。

席夫碱<sup>[5]</sup>(Schiff base)是指含有亚氨基(HC=N)或烷亚氨基基团(RC=N)的一类有机化合物。由于 C=N 键

收稿日期: 2018-11-01, 修订日期: 2019-03-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(21671037, 21471030, 21771036)资助

作者简介: 宁晓钰, 1993 年生, 东华大学化学化工与生物工程学院硕士研究生 e-mail: Ida163@163.com

\* 通讯联系人 e-mail: syg@dhu.edu

的存在, 席夫碱具有非常好的配位能力, 能与过渡金属以氮、氧原子进行配位形成复杂配合物, 成为金属离子类荧光探针设计的最优候选结构之一<sup>[6]</sup>。Liu 等<sup>[7]</sup>设计合成的 6-乙氧基色酮-3-甲醛-(3-羟基-2-萘酰基)脲化合物, 由于其和  $\text{Al}^{3+}$  进行 2 : 1 配位, 使得探针的席夫碱部分  $\text{C}=\text{N}$  异构化受到抑制, 导致荧光强度增强, 该探针络合常数为  $9.24 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 检出限为  $182 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Zhou 等<sup>[8]</sup>也以于喹啉衍生物设计合成了用于检测  $\text{Al}^{3+}$  的单基团 Schiff 型探针。而罗丹明类染料是一类含有氧杂蒽环刚性平面结构的, 具有螺环和开环两种互变分子结构<sup>[9]</sup>。由于其较好的水溶性、无毒、较高的摩尔消光系数和荧光量子产率, 在分析和生物等领域中常被作为荧光传感器的母体。基于罗丹明及其衍生物的螺酰胺环的“开-关”机制, Gupta 等<sup>[10]</sup>合成了一种能同时检测  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Al}^{3+}$  的罗丹明 Schiff 传感器, 该传感器和  $\text{Cu}^{2+}$  以及  $\text{Al}^{3+}$  都以 1 : 1 进行结合。综上所述, 目前大量文献<sup>[8, 10-12]</sup>报道的都是单识别基团的化合物, 荧光团和识别基团通过桥梁将两个识别基团连接起来。双探针基团构成的探针分子至今还未见报道。

据此本论文研究了以三聚氯氰为桥梁将罗丹明酰胺和席夫碱衍生物链接在一起的 DPG 聚氰分子(RBCS), 通过 Job-plot 实验, MALDI-TOF-MASS 以及  $^1\text{H}$  NMR 详细研究了探针分子与  $\text{Al}^{3+}$  的识别机理, 研究了探针分子对  $\text{Al}^{3+}$  的识别性能, 通过荧光滴定实验研究了 RBCS 的检出限。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器及试剂

AL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器公司), LS 55 Fluorescence Spectrometer(PerkinElmer), 4800 型基质辅助激光电离飞行时间质谱(Applied Biosyst), Bruker AVANCE/DMX600 型核磁共振仪器(瑞士 Bruker 公司)。

$\text{AlCl}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  为分析纯, 无水乙醇购自国药集团化学试剂公司; 氘代丙酮购自上海泰坦科技股份有限公司, 所购买的溶液和试剂没有进行提纯或纯化; RBCS 为本实验室自己合成。

### 1.2 方法

探针 RBCS 储备液配制: 称取 0.212 9 g 的探针分子溶于各个溶剂中, 定容到 250 mL 容量瓶中, 配置成浓度是  $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  探针分子的储备液;

金属离子储备液配制: 准确称取  $10^{-1} \text{ mol}$  质量  $\text{Al}^{3+}$  盐固体溶于乙醇中, 100 mL 容量瓶内定容后配制成  $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度铝离子储备液。

光度滴定实验: 取上述储备液配制 RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 加入不同体积  $\text{Al}^{3+}$  溶液后, 用乙醇/水 (99/1, V/V) 溶液进行定容后, 在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$  为 557/578 nm 条件下测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 RBCS- $\text{Al}^{3+}$ 络合机理研究

通过 Job-plot 曲线、核磁滴定、MALDI-TOF-MASS 研

究了 RBCS 对  $\text{Al}^{3+}$  的络合比和识别机理。

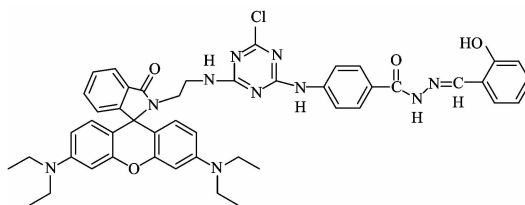


图 1 RBCS 探针结构

Fig. 1 The structure of RBCS probe

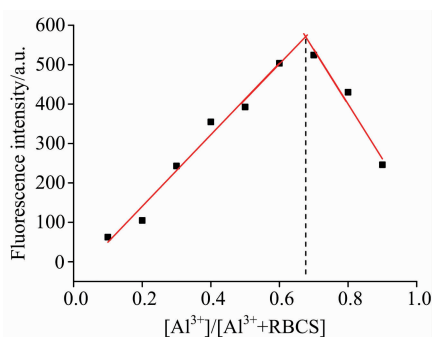


图 2 RBCS- $\text{Al}^{3+}$  的 Job-plot 曲线

Fig. 2 Job-plot curve of RBCS- $\text{Al}^{3+}$

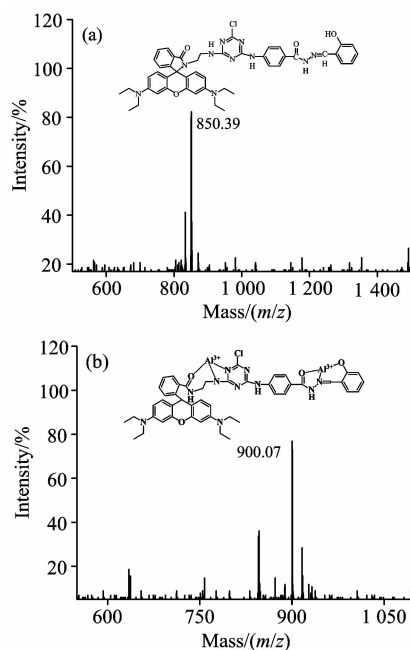


图 3 RBCS 和 RBCS- $\text{Al}^{3+}$  的质谱

Fig. 3 Mass spectrometry of RBCS and RBCS- $\text{Al}^{3+}$

为了更好的确认探针 RBCS 与  $\text{Al}^{3+}$  结合的比例, 通过固定  $\text{RBCS} + \text{Al}^{3+}$  的浓度总和为  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 改变二者的浓度比得到在 578 nm 处的荧光强度与该浓度下荧光探针自身荧光强度的差值, 对离子占总浓度的比例作图, 通过图 2 可知当所占比例为 0.68 时纵坐标可以达到最高值, 所以 RBCS 与  $\text{Al}^{3+}$  之间主要以 1 : 2 进行配位识别, 如图 3 所示的

MALDI-TOF-MASS 分析也证实了这一点, 在图 3(a) 中 850.39 处的主峰为  $[\text{RBCS-H}]^+$ , 而在图 3(b) 中 900.07 处显示出的主峰, 归因于探针  $[\text{RBCS} + 2\text{Al} \cdot 5\text{H}]^+$  (计算值为 900.32)。这就更进一步证实了 RBCS 为双探针基团分子, 且以 1:2 实现对  $\text{Al}^{3+}$  的络合。

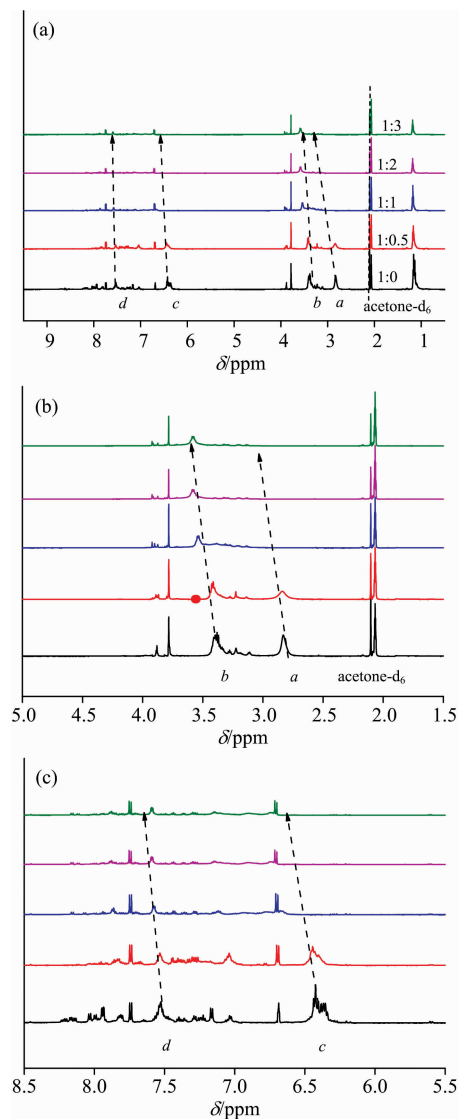


图 4 (a): 在 RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的氘代丙酮溶液中依次加入 0, 0.5, 1, 2, 3 当量  $\text{Al}^{3+}$  后的氢谱对比图; (b): 5.0~1.5 ppm; (c): 8.5~5.5 ppm

Fig. 4 (a):  $^1\text{H}$  NMR Contrast diagram of Acetone- $\text{d}_6$  solution-containing RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) after adding 0, 0.5, 1, 2, 3 equivalent  $\text{Al}^{3+}$  in turn; (b): 5.0~1.5 ppm; (c): 8.5~5.5 ppm

为更进一步的确定  $\text{Al}^{3+}$  与探针 RBCS 的配位方式, 以氘代丙酮为溶剂分别测试了探针 RBCS 与加入 0, 0.5, 1, 2, 3 当量  $\text{Al}^{3+}$  后的核磁共振氢谱, 如图 4 所示, 通过对比特征 H 的位置变化, 进行详细的机理分析。从图中可以看出, 探针 RBCS 的 CH 信号峰分别在 2.82 ppm (a 位置), 3.38 ppm (b 位置), 6.42 ppm (c 位置), 3.38 ppm (b 位置), 当依次加入

0, 0.5, 1, 2, 3 当量铝离子后, 所有的特征信号峰都发生了变化, 2.87 ppm (a 位置) 的氢逐渐移动至 3.27 ppm, 3.38 ppm (b 位置) 的氢逐渐移动至 3.57 ppm, 6.42 ppm (c 位置) 的 CH 信号峰逐渐 6.59 ppm 至逐渐消失, 通过放大图 4(b) 和 (c) 可清晰地看出, 说明配位引起了苯环上的氢的化学环境发生了变化, 导致氢的移动。综上所述, 加入  $\text{Al}^{3+}$  后, 探针 RBCS 的羰基 O, 胺基 N 和三氟上 N 作为供体结合  $\text{Al}^{3+}$ ,

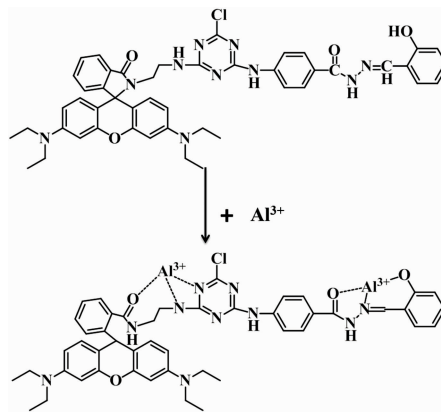


图 5 RBCS- $\text{Al}^{3+}$  的络合模型

Fig. 5 Complex model of RBCS- $\text{Al}^{3+}$

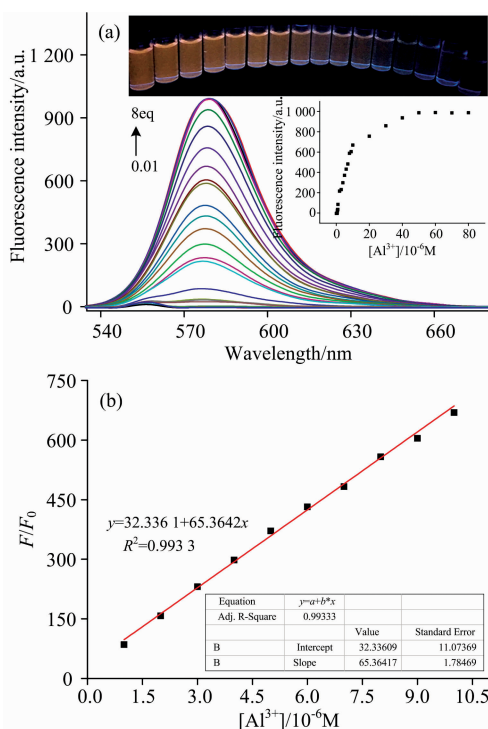


图 6 (a): RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对不同浓度  $\text{Al}^{3+}$  荧光响应图谱 (内插图为  $\lambda_{\text{em}} = 578 \text{ nm}$  处的荧光强度点状图); (b): 相对荧光强度  $F/F_0$  和  $\text{Al}^{3+}$  浓度线性关系曲线

Fig. 6 (a): RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) fluorescence response map for different concentrations of  $\text{Al}^{3+}$  (The internal illustration is dot intensity map of fluorescence intensity at  $\lambda_{\text{em}} = 578 \text{ nm}$ ); (b): The relative fluorescence intensity is linear relationship between  $F/F_0$  and  $\text{Al}^{3+}$  concentration

导致罗丹明螺环打开,同时席夫碱部分的亚胺基团的 N 以及羧酸根和酚基的两个 O 分别与  $Al^{3+}$  络合导致  $C=N$  键异构化效应受到抑制,从而使得荧光显著增强,其络合方式如图 5 所示。

## 2.2 RBCS- $Al^{3+}$ 滴定曲线及检出限

为了研究探针 RBCS 的灵敏度,本文采用光度滴定法测定在乙醇/水(99/1, V/V)溶液中 RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )对不同浓度  $Al^{3+}$  ( $0.01 \sim 8 \text{ eq}$ )的荧光强度[如图 6(a)所示,其中  $\lambda_{\text{ex}}=557 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=578 \text{ nm}$ ],并对数据做线性回归,回归方程为  $y=32.336 0+65.364 1x$ ,  $R^2=0.993 3$ ,线性范围为  $1 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,如图 6(b)所示,通过  $3\sigma/k$  算得检出限  $15 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

## 3 结 论

研究了一种新型的 DPG 的罗丹明-席夫碱衍生物荧光探

针的光学性能和络合机理,光度滴定实验表明 RBCS 检测  $Al^{3+}$  的线性范围为  $1 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,检出限  $15 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。详细研究了其对  $Al^{3+}$  的识别作用,即通过罗丹明和席夫碱结构中的两种识别基团协同作用实现对  $Al^{3+}$  的识别,最终导致荧光以及分子的平面和刚性增强, $Al^{3+}$  与罗丹明酰胺中的酰氧、以及亚氨基和三聚氯氰上的 N 发生络合增加了分子整体的共轭性,使得该双探针基团的聚氰分子 RBCS 和  $Al^{3+}$  以 1:2 发生络合,通过 Job-plot 和 MALDI-TOF-MASS 加以证实。最后通过  $^1\text{H NMR}$  滴定实验得出其络合位置,即当  $Al^{3+}$  存在时,与罗丹明酰胺中的羰基 O,胺基 N 和氯氰上 N 发生络合,同时席夫碱部分亚胺基团的 N 以及羧酸根和酚基的两个 O 分别与  $Al^{3+}$  络合从而增加了整体的共轭性, $C=N$  键被固化,导致荧光强度显著增强。

## References

- [1] Kumar M, Kumar A, Faizi M S H, et al. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 260: 888.
- [2] Liu X, Tu L, Wang J, et al. *Brain & Language*, 2017, 174: 16.
- [3] Yu F, Hou L J, Qin L Y, et al. *Journal of Photochemistry & Photobiology A Chemistry*, 2016, 315: 8.
- [4] Cheng R, Peng Y, Ge C, et al. *Microchimica Acta*, 2017, 184(9): 3521.
- [5] DOU Xue-kai(窦薛楷). *Science and Technology Economic Guide(科技经济导刊)*, 2017, 8.
- [6] Pang B J, Li C R, Yang Z Y. *Journal of Photochemistry & Photobiology A Chemistry*, 2017, 356: 159.
- [7] Liu L M, Yang Z Y. *Inorganica Chimica Acta*, 2018, 469: 588.
- [8] Zhou F, Wang H, Liu P, et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 190: 104.
- [9] Perumal S, Karuppannan S, Gandhi S, et al. *New Journal of Chemistry*, 2018, 42(14): 11665.
- [10] Gupta V K, Mergu N, Kumawat L K. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 223: 101.
- [11] Maniyazagan M, Mariadasse R, Nachiappan M, et al. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 254: 795.
- [12] Guang S, Wei G, Yan Z, et al. *Analyst*, 2018, 143(2): 449.

# Study on Recognition Mechanism of $\text{Al}^{3+}$ by Cyanuric Chloride Molecules of Dual-Probe Group (DPG)

NING Xiao-yu<sup>1</sup>, WEI Gang<sup>2</sup>, GUANG Shan-yi<sup>1\*</sup>, ZHAO Gang<sup>2</sup>, XU Hong-yao<sup>2,3</sup>

1. College of Chemistry, Chemical Engineering and Biotechnology, Donghua University, Shanghai 201620, China

2. College of Materials Sciences and Engineering and State Key Laboratory for Modification of Chemical Fibers and Polymer Materials, Donghua University, Shanghai 201620, China

3. Research Center for Analysis and Measurement of Donghua University, Shanghai 201620, China

**Abstract** The metabolism of aluminum in the human body is extremely slow, the ingested aluminum will accumulate in the body gradually, and the  $\text{Al}^{3+}$  of abnormal concentration will damage the central nervous system, leading to serious neurological diseases, so the detection of  $\text{Al}^{3+}$  efficiently and sensitively is very important. Fluorescent probes are widely used for analysis and detection of metal ion because of their advantages of convenient carrying, quick and easy detection, low price, good selectivity, etc., and a large number of literature for the detection of  $\text{Al}^{3+}$  are based on being complexed with Single-Probe Group (SPG) molecules at 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1, etc. In this paper, an active cyanuric chloride as a bridging group, a rhodamine B amide and a Schiff base derivative, p-amino benzoyl salicylic acid, as a cyanuric chloride molecule (RBCS) of a dual-probe group (DPG) was studied. It is prepared in one step by an easily controlled thermodynamic method. The total concentration of immobilized RBCS +  $\text{Al}^{3+}$  was  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , and the experimental results of Job-plot show that the fluorescence intensity at 578 nm reaches the highest value when the ratio of ions to total concentration is 0.68, by adjusting the concentration ration of the two, the result indicates that RBCS and  $\text{Al}^{3+}$  are mainly coordinated by 1 : 2. The MALDI-TOF-MASS study found that the new peak of RBCS- $\text{Al}^{3+}$  at 900.07 compared to the spectrum without  $\text{Al}^{3+}$ , further verified that the DPG cyanuric chloride (RBCS) and  $\text{Al}^{3+}$  are complexed at 1 : 2. The recognition mechanism of RBCS to  $\text{Al}^{3+}$  was studied in detail by the  $^1\text{H}$  NMR titration experiment with 0, 0.5, 1, 2, 3 equivalents of  $\text{Al}^{3+}$  added to the probe RBCS (10 mg) to compare the change of the characteristic H position. The results indicate that when  $\text{Al}^{3+}$  is present, the complexation of  $\text{Al}^{3+}$  with the carbonyl O, amino N and cyanuric chloride N on the rhodamine part of RBCS leads to the ring opening of rhodamine, at the same time, the imino group N of Schiff base and two O of carboxylic acid radical and phenol radical also bind with  $\text{Al}^{3+}$  respectively which solidifies the  $\text{C}=\text{N}$  bond and increases the overall conjugation resulting in fluorescence. In conclusion, the cyanuric chloride molecule (RBCS) can be used as a Double-probe group molecule for the recognition of  $\text{Al}^{3+}$  ions. RBCS- $\text{Al}^{3+}$  showed orange-red fluorescence under 365 nm ultraviolet lamp irradiation, and the fluorescence increased gradually with the increase of  $\text{Al}^{3+}$  concentration. After optimizing the testing conditions of RBCS optical properties, the optical properties of RBCS were studied in ethanol/water (99/1, V/V) solution. The RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in the ethanol/water (99/1, V/V) solution was carried out by fluorescence titration experiments at an excitation wavelength of 557 nm and an emission wavelength of 578 nm finally. The fluorescence intensity changes of RBCS ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) for different concentrations of  $\text{Al}^{3+}$  (0.01~8 eq) were tested, and the data was linearly regressed. The equation was  $y=32.336 0+65.364 1x$ ,  $R^2=0.993 3$ , and the linear range was 1~10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The detection limit of RBCS for  $\text{Al}^{3+}$  calculated by  $3\sigma/k$  is  $15.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The research in this study can provide a reference for the design of double probe group (DPG) molecules for the detection of metal ions.

**Keywords**  $\text{Al}^{3+}$ ; Dual-probe group; Recognition mechanism; Rhodamine-schiff base derivative

(Received Nov. 1, 2018; accepted Mar. 17, 2019)

\* Corresponding author