

分析测试

主侧链协同作用型高选择性苯胺荧光探针

贾金兰^{1,2}, 余金平³, 贺庆国^{1,2*}, 付艳艳^{1,2}, 程建功^{1,2}

(1.中国科学院上海微系统与信息技术研究所, 上海 200050;
2.中国科学院大学, 北京 100049; 3.上海科技大学, 上海 201210)

摘要:针对苯胺分子兼有苯环和胺基的结构特点,通过骨架与侧链协同修饰,设计并合成了2种不同侧链修饰的多锚点醛基荧光探针(4A2BNDF和4A2CzDF)。研究发现,侧链不同时探针的发光波长和HOMO能级位置不同;当苯胺浓度从0增加至 2×10^{-3} mol/L时,4A2BNDF和4A2CzDF 2种探针荧光分别猝灭69%和47%,检测限分别可达9.3、68 $\mu\text{mol/L}$,且前者具有更优异的选择性。核磁数据表明,二者皆通过化学反应检测苯胺;量化计算表明,传感性能差异的原因在于侧链与苯胺间作用力大小不同。侧链与主链协同修饰检测被分析物的策略对有机荧光探针的设计有指导意义。

关键词:主侧链协同;苯胺;荧光探针;高选择性;多锚点醛

中图分类号:TQ594

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2019)12-0231-06

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2019.12.049

Main/side chains synergistic fluorescent probes for highly selective detection of aniline

JIA Jin-lan^{1,2}, YU Jin-ping³, HE Qing-guo^{1,2*}, FU Yan-yan^{1,2}, CHENG Jian-gong^{1,2}

(1.Shanghai Institute of Microsystem and Information Technology, Shanghai 200050, China; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3.ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China)

Abstract:In consideration of the structural characteristics of aniline molecule, which has both benzene ring and amine group, two kinds of different side-chain modified multi-anchor aldehyde-based fluorescent probes (4A2BNDF and 4A2CzDF) are designed and synthesized by the synergistic modification of backbone and side chains. It is found that the difference in side chains can result in differences in the wavelength of the probe and the position of the HOMO level. The fluorescence of 4A2BNDF and 4A2CzDF quenches by 69% and 47%, respectively and the detection limits are 9.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and 68 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively when the concentration of aniline increases from 0 to 2×10^{-3} mol $\cdot \text{L}^{-1}$. Moreover, 4A2BNDF probe has more excellent selectivity. NMR data indicate that both probes can detect aniline by chemical reaction. The quantitative calculation shows that the difference in sensing performance is due to the difference in the force between the side chain and aniline. The synergistic modification of main/side chain strategy for detecting target substances has guiding value for the design of organic fluorescent probes.

Key words: synergistic effect of main chain and side chain; aniline; fluorescent probe; high selectivity; multi-anchor aldehyde

由于易剪裁、高灵敏和快响应等特点,有机荧光探针广受关注^[1,2]。有机荧光探针主要基于骨架或侧链的修饰,利用识别单元与被分析物作用,引发构象、电子或能量的变化,导致荧光信号的变化。在检测受体型分子如三硝基甲苯^[3]方面和检测金属离子^[4]、阴离子^[5]或生物大分子^[6]方面,仅通过骨架或侧链修饰就可以获得优异的性能。但对于给体型分子如苯胺的检测,探针还存在对其他有机胺响应的问题,选择性很不理想。因此,需要设计更精巧的分子结构实现检测。

苯胺作为化工原料和精细化工的中间体被广泛

用于工业过程,不仅会导致严重的环境污染^[7-8],还会导致人体中毒,长期接触还可引起癌症^[9-11]。目前,对液相中苯胺的检测主要有光度法^[12]、高效液相色谱^[13-14]、气相色谱法^[15-16]和液质联用^[17-18]等。这些传统方法存在干扰多、操作烦琐、耗时长或仪器笨重、成本高等问题,不适合现场快速检测。

芴的二倍体材料因具有骨架和侧链多反应位点、高荧光量子效率与摩尔吸光系数等特点,成为一类优异的荧光传感材料^[19]。对其骨架结构引入芘、苯甲醇^[19-21]等可分别实现硝酸酯类或氯胺酮的检

收稿日期:2019-03-25;修回日期:2019-09-28

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFC0821100);国家自然科学基金项目(61731016,61771460);中科院青促会项目(2015190)

作者简介:贾金兰(1994-),女,硕士,研究方向为荧光化学传感器,jia_jinlan@163.com;贺庆国(1974-),男,博士,研究员,研究方向为荧光化学传感器,通讯联系人,hqg@mail.sim.ac.cn。

测,但是关于二倍体材料关注点仍停留在骨架修饰上,而忽略了侧链对探针的影响。针对苯胺同时含苯环和胺基的结构特点,在二倍体的骨架引入多个醛基修饰的同时,通过侧链引入含芳环的咪唑或极性基团 BocNH 基对其进行协同修饰,以对发光性能和能级调控,并通过主链和侧链协同作用实现对苯胺的高选择性检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

^1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱在 Bruker DRX500 仪

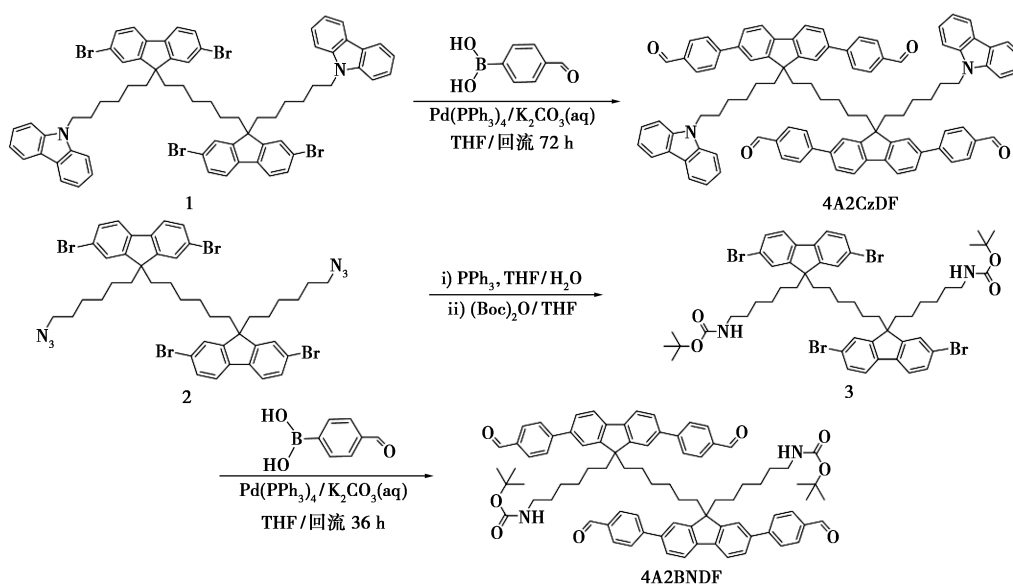


图 1 探针 4A2CzDF 和 4A2BNDF 的合成路线

化合物 3: 在 0.49 g 化合物 2 的 THF/H₂O (21 mL/3 mL) 中加入 0.39 g PPh₃, 室温下搅拌 12 h。除去溶剂后,加入 0.44 g (Boc)₂O 于 20 mL 无水 THF 中,室温下搅拌 2 h,除去溶剂,过柱纯化得到白色固体。

4A2CzDF: 0.31 g 化合物 1, 0.24 g 对甲酰苯硼酸和 49 mg Pd(PPh₃)₄ 脱气除氧 30 min, 随后将除氧 30 min 的 10 mL THF 和 5 mL 的 K₂CO₃ (2 mol/L) 注入其中。混合液在 85℃ 中回流 72 h。反应结束后,氯仿(20 mL, 3 次)萃取,有机相用无水硫酸镁干燥,过滤,旋干,硅胶柱提纯,得淡黄色固体粉末(0.108 g, 32.44%)。 ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ : 10.06 (s, 4H), 8.03 (d, 4H, $J = 7.6$ Hz), 7.92 (d, 8H, $J = 8.2$ Hz), 7.70 (dd, 12H, $J = 7.9, 6.0$ Hz), 7.55 (dd, 4H, $J = 7.9, 1.7$ Hz), 7.44 (d, 4H, $J = 1.7$ Hz), 7.34 (t, 4H, $J = 7.7$ Hz), 7.22 (d, 4H, $J = 8.2$ Hz), 7.15 (t, 4H, $J = 7.4$ Hz), 4.10 (t, 4H, $J =$

7.2 Hz), 1.94 ~ 1.85 (m, 8H), 1.63 (p, 4H, $J = 7.3$ Hz), 1.07 (h, 8H, $J = 7.8, 7.3$ Hz), 0.84 (d, 4H, $J = 5.6$ Hz), 0.63 ~ 0.43 (m, 8H)。MALDI-TOF MS, C₉₆H₈₆N₂O₄, 实测值(计算值), m/z : 1 331.7 (1 331.5)。

所有的化学试剂均通过商业途径购买。苯胺(阿拉丁, MDI 级); 其他胺(阿拉丁, $\geq 99\%$); 甲苯(阿拉丁, $>99.5\%$); 四氢呋喃(上海泰坦科技股份有限公司, 分析纯), 用钠重蒸后使用。化合物 1^[19] 和化合物 2^[22] 在之前的工作中已合成并报道。

1.2 荧光传感材料的制备

2 种探针分子的合成过程如图 1 所示。

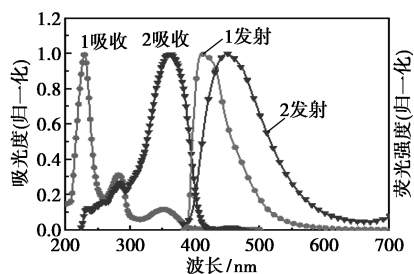
4A2BNDF: 取化合物 3 0.28 g, 对甲酰苯硼酸 0.24 g 和 49 mg Pd(PPh₃)₄ 于烧瓶中, 脱气除氧 30 min, 随后将除氧 30 min 的 10 mL THF 和 5 mL 的 K₂CO₃ (2 mol/L) 注入其中。混合液在 85℃ 中回流 72 h。反应结束后,氯仿(20 mL, 3 次)萃取,有机相用无水硫酸镁干燥,过滤,旋干,硅胶柱提纯,得白色固体粉末(0.206 g, 61.97%)。 ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz), δ : 10.07 (s, 4H), 7.96 (d, 8H, $J = 8.1$ Hz), 7.75 (dd, 12H, $J = 15.2, 7.9$ Hz), 7.59 (dd, 4H, $J = 7.9, 1.8$ Hz), 7.49 (d, 4H, $J = 1.8$ Hz), 4.34 (s, 2H), 2.93 (d, 4H, $J = 7.2$ Hz), 1.98 ~ 1.89 (m, 8H), 1.57 (s, 4H), 1.37 (s, 18H), 1.03 (dd, 8H, $J = 6.5,$

3.2 Hz), 0.86 (s, 4H), 0.61 (s, 4H), 0.51 (s, 4H)。MALDI-TOF MS, $C_{82}H_{88}N_2O_8$, 实测值(计算值), m/z : 1228.7(1229.7)。

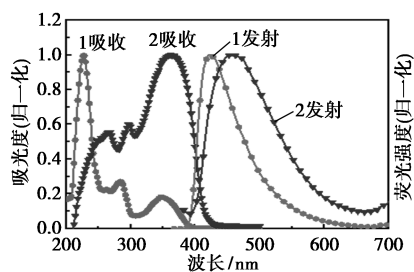
2 结果与讨论

2.1 光谱性质

4A2BNDF 和 4A2CzDF 在四氢呋喃(THF)中都具有很好的溶解性, 2种探针的 THF 溶液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)及薄膜态下的紫外吸收和发射光谱如图2所示, 光学和电化学数据见表1。4A2BNDF、4A2CzDF 的吸收从溶液到薄膜态分别红移了131.5、135.5 nm, 表明2种探针在聚集态下有很强的分子间自聚集作用。与4A2BNDF相比, 4A2CzDF 的发射波长更长, 原因可能在于咪唑可以与醛基骨架间通过 $\pi-\pi$ 作用发生电荷转移导致发射峰红移, 而 BocNH 基与骨架间无 $\pi-\pi$ 作用, 相反会因位阻而降低骨架间的聚集使发射峰略蓝移。从能级数据来看, 侧链的不同对 HOMO 能级的影响较大, 对 LUMO 能级的影响很小。探针 4A2CzDF 由于咪唑与骨架间的电子推拉结构使得 HOMO 能级升高, 而 BocNH 基与骨架结构的作用弱, HOMO 能级较低, 与其发光峰数据一致。



1—4CHO2BocNH 的 THF 溶液; 2—4CHO2BocNH 薄膜
(a) 4A2BNDF



1—4CHO2Cz 的 THF 溶液; 2—4CHO2Cz 薄膜
(b) 4A2CzDF

图2 4A2BNDF 和 4A2CzDF 的紫外吸收和发射光谱图

此外, 摩尔吸光系数是衡量探针材料吸光能力的重要参数。如表1所示, 4A2BNDF 和 4A2CzDF

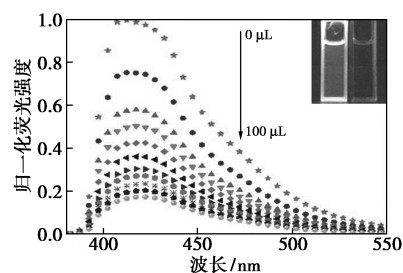
表1 4A2BNDF 和 4A2CzDF 的光学和电化学性质

	4A2BNDF	4A2CzDF
吸收波长/nm		
溶液	229	227
薄膜	360.5	362.5
$\Delta\lambda_{\text{max}}$	131.5	135.5
激发波长/nm		
溶液	394	388
薄膜	378	396
发射波长/nm		
溶液	410	423.5
薄膜	449.5	452.5
$\Delta\lambda_{\text{max}}$	39.5	29
HOMO/eV	5.20	4.68
LUMO/eV	3.01	2.99
$\Delta E/\text{eV}$	2.19	1.69
$\log \lambda_{\text{max}}$	6.26	6.17

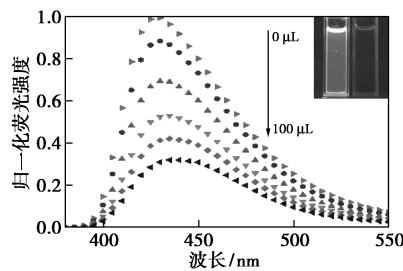
均具有非常高的吸光系数, 且前者的吸光系数是后者的1.23倍。因此, 4A2BNDF 更适合作为高效的荧光探针材料。

2.2 传感性能

如图3所示, 随着苯胺溶液(33.3 $\mu\text{mol}/\text{L}$)的梯度滴加, 2种探针的荧光都发生了明显猝灭。当苯胺浓度为3.33 mmol/L时, 肉眼可见2种探针的荧光几乎完全猝灭。4A2BNDF 和 4A2CzDF 的猝灭率分别为83%和68%, 前者比后者的猝灭率高



(a) 4A2BNDF



(b) 4A2CzDF

图3 4A2BNDF 和 4A2CzDF 在不同浓度的苯胺溶液中的荧光发射光谱图

15%, 说明 4A2BNDF 对苯胺的传感性能更好。

为进一步比较二者的传感性能, 将苯胺浓度进行梯度稀释, 分别测试了 2 种探针在不同浓度下的猝灭率(图 4)。猝灭率与浓度关系可通过 Langmuir 方程很好地拟合, 以 1% 响应程度为光谱仪的极限, 推算出 4A2BNDF、4A2CzDF 对苯胺的检测限分别为 9.33、68.67 $\mu\text{mol/L}$, 后者高于前者 7.36 倍。可见 4A2BNDF 检测苯胺的灵敏度更高, 更适合作为苯胺的荧光传感材料。

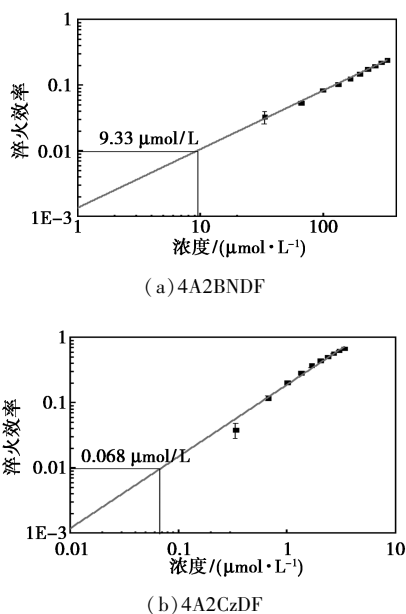


图 4 4A2BNDF 和 4A2CzDF 对苯胺的检测限曲线

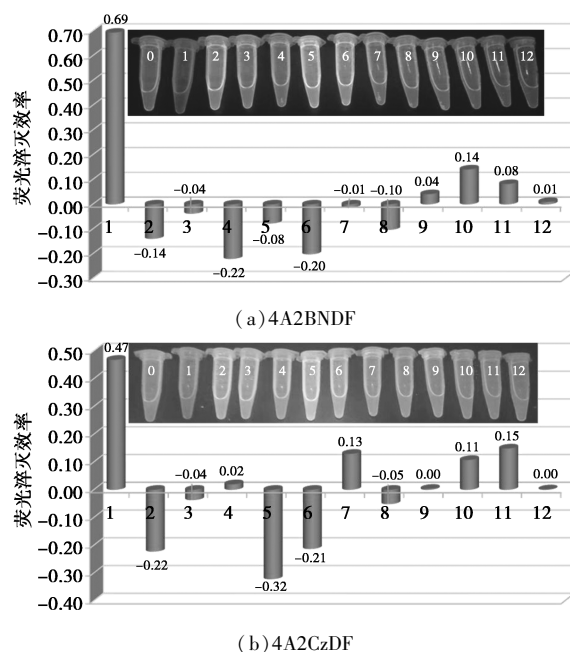
2.3 选择性测试

选择性是决定传感材料性能的另一重要指标。这里选取 10 种有机胺和甲苯作为干扰物。图 5 为探针在 2 mmol/L 干扰物中的荧光猝灭程度对比图。由图 5 可知, 4A2BNDF 对二乙胺和三正丙胺的荧光猝灭率仅为 1% 和 8%, 而 4A2CzDF 对其猝灭率分别为 13% 和 15%, 相当于苯胺响应猝灭率的 0.28 倍和 0.32 倍。可见 4A2BNDF 的选择性优于 4A2CzDF, 抗干扰能力更强。

2.4 传感机理

为了理解 2 种探针传感性能的差异性, 利用 Materials Studio 8 对 2 种探针分子进行了结构优化, 并计算了探针及苯胺和各种干扰物的能级, 结果如图 6、图 7 和表 2 所示。

图 6 给出了探针分子优化后的分子结构, 可见 4A2BNDF、4A2CzDF 的侧链与骨架间的平均距离分别为 8.18、3.65 Å, 说明咪唑与骨架之间存在相互作用, 而 BocNH 则无与骨架间相互作用, 因而导致



1—苯胺; 2—苄胺; 3—*N*-甲基苄胺; 4—*N,N*-二甲基苄胺; 5—正丙胺; 6—正己胺; 7—二乙胺; 8—二正丙胺; 9—二异丙胺; 10—三乙胺; 11—三正丙胺; 12—甲苯

图 5 4A2BNDF 和 4A2CzDF 在不同化合物中的猝灭率
内嵌图为 365 nm 紫外灯激发下探针和在探针在不同化合物中的荧光颜色变化

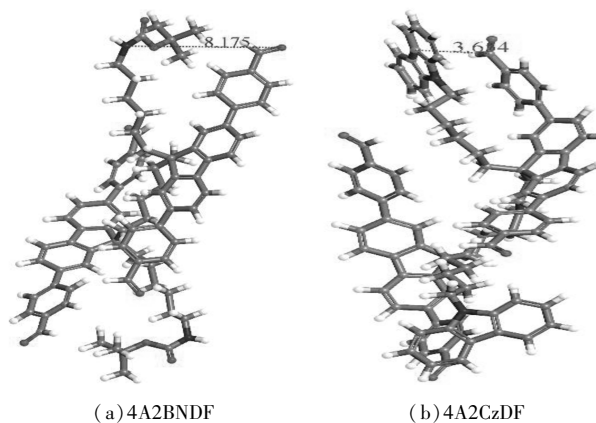


图 6 4A2BNDF 和 4A2CzDF 优化后的结构

二者间的光谱和能级位置差异。

图 7 为探针和苯胺分子的能级位置及电荷分布图。可见苯胺分子的 HOMO 能级高于 2 种探针的 HOMO 能级, 因此在激发态条件下, 2 种探针都可以发生由苯胺向探针的光电子诱导转移 (PET), 导致荧光猝灭。表 2 汇总了探针和各种被分析物的 HOMO 能级, 可以看出, 除苯胺、三乙胺和三正丙胺外, 其他胺的 HOMO 能级均低于 4A2BNDF/4A2CzDF, 不能满足 PET 猝灭机理, 所以其他胺不能导致荧光猝灭。

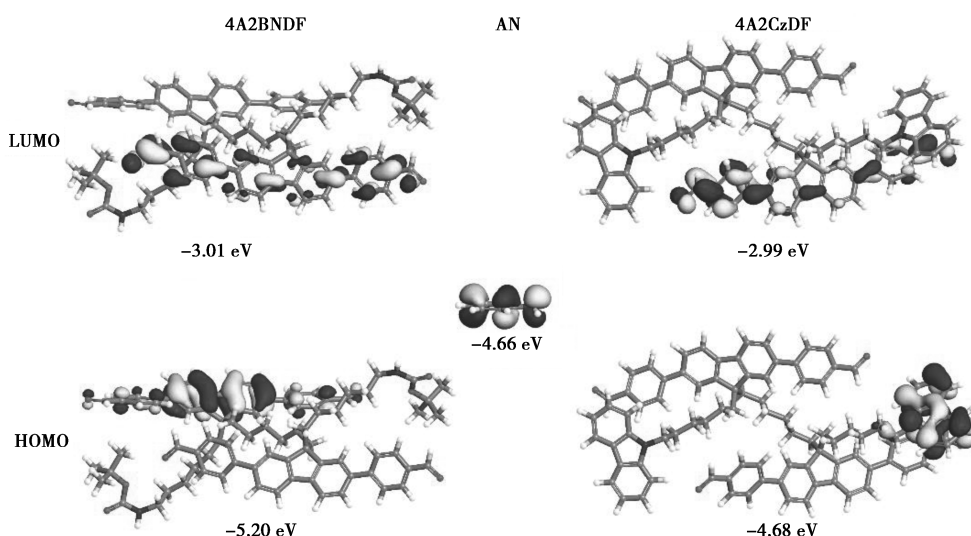


图 7 探针和苯胺的能级位置及电荷分布

表 2 探针和各种被分析物的 HOMO 能级 eV

	4A2BNDF	4A2CzDF	苯胺	苄胺	N-甲基苄胺
HOMO	-5.20	-4.68	-4.66	-5.40	-5.06
	N,N-二甲基苄胺	正丙胺	正己胺	二乙胺	二正丙胺
HOMO	-4.86	-5.36	-5.35	-4.98	-4.97
	二异丙胺	三乙胺	三正丙胺	甲苯	
HOMO	-4.94	-4.61	-4.59	-5.77	

既然从能级上二者都可以与苯胺发生光诱导电荷转移,那么二者性能差异的原因很可能来自二者

与苯胺的作用力因素。经对探针加入苯胺后的核磁数据对比(图 8)发现,2 种探针的 10.08×10^{-6} 处的醛基氢与苯胺接触后几乎消失, 8.49×10^{-6} 处则出现 1 个新峰,对应于席夫碱的氢,说明探针骨架醛基与苯胺间发生了化学反应。不同的是,与苯胺接触后,4A2BNDF 醛基氢几乎完全消失,而 4A2CzDF 醛基上的氢仅部分消失且新峰较弱,说明同等条件下 4A2BNDF 与苯胺接触后反应更完全。

利用 Materials Studio 8 对 2 种探针分子与苯胺作用过程进行了动力学模拟,结果如图 9 所示。可

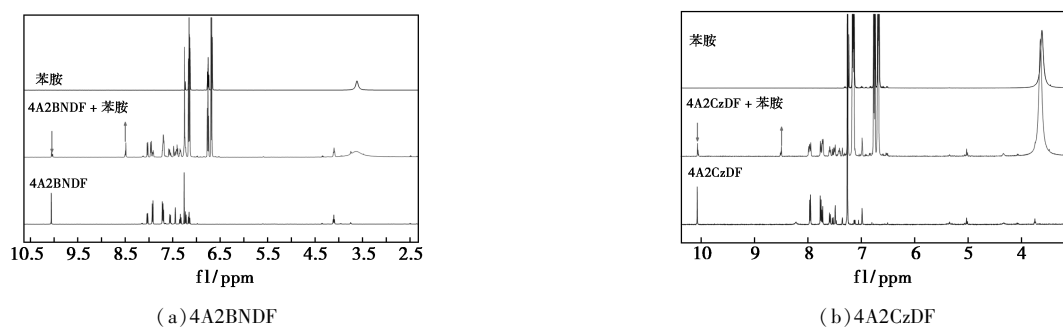


图 8 4A2BNDF/4A2CzDF、苯胺和 4A2BNDF/4A2CzDF、苯胺的 ¹H NMR 谱

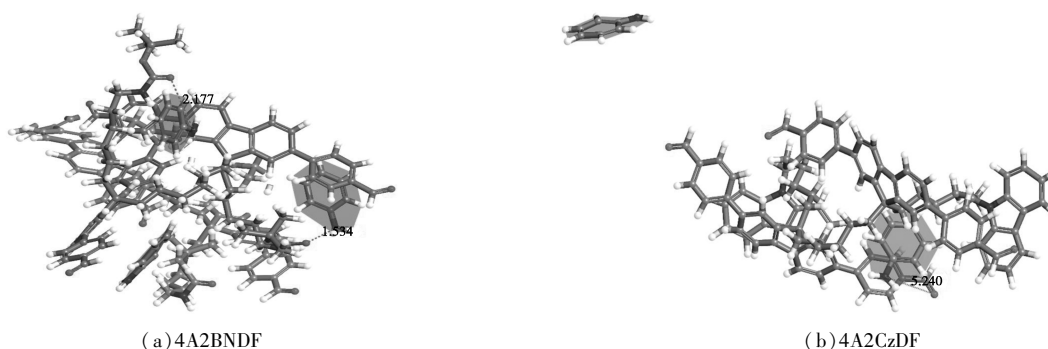


图 9 探针分子与苯胺作用后的分子间作用力模拟放大图

以看出,苯胺分子完全进入 4A2BNDF 内部,且羰基上的氧与 2 个苯胺的氮原子间的距离分别为 1.53、2.18 Å,表明其侧链羰基与苯胺间存在强相互作用。而 4A2BNDF 羰基上的氧与苯胺的氮原子最短距离为 5.24 Å,影响其与苯胺分子接触,传感性能弱于 4A2BNDF,所以导致传感性能的差异。

3 结论

针对给体型被分析物苯胺,通过主链侧链协同修饰,设计并合成了 2 种骨架带有醛基官能团的荧光探针 4A2BNDF 和 4A2CzDF。通过研究发现,侧链不同会导致探针的发光波长和 HOMO 能级的不同。探针 4A2BNDF 侧链的 -BocNH 可以与骨架醛基单元协同作用,使探针与苯胺分子接触更紧密,荧光猝灭更强,选择性更高,因而是一种优异的传感材料。主侧链协同设计以提高选择性的策略对化学危险品荧光探针的设计及其检测具有理论价值和应用价值。

参考文献

- [1] Tanwar A S, Hussain S, Malik A H, *et al.* Inner filter effect based selective detection of nitroexplosive-picric acid in aqueous solution and solid support using conjugated polymer [J]. *ACS Sensors*, 2016, 1(8): 1070-1077.
- [2] Che Y, Yang X, Liu G, *et al.* Ultrathin *n*-type organic nanoribbons with high photoconductivity and application in optoelectronic vapor sensing of explosives [J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(16): 5743-5750.
- [3] Ma H, Yao L, Li P, *et al.* Highly sensitive and selective fluorometric/electrochemical dual-channel sensors for TNT and DNT explosives [J]. *Chemistry*, 2014, 20(37): 11655-11658.
- [4] Slassi S, Aarjane M, El-Ghayoury A, *et al.* A highly turn-on fluorescent CHEF-type chemosensor for selective detection of Cu²⁺ in aqueous media [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 215: 348-353.
- [5] Lei Y, Wang K P, Chen S, *et al.* A fluorescent probe based on tetrahydrohelicene for highly selective recognition of hydrogen sulfide [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 204: 295-300.
- [6] Zhang P, Ding Y, Liu W, *et al.* Red emissive fluorescent probe for the rapid detection of selenocysteine [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 264: 234-239.
- [7] Sangeetha P T, Ramesh M N, Prapulla S G. Fructooligosaccharide production using fructosyl transferase obtained from recycling culture of *Aspergillus oryzae* CFR 202 [J]. *Process Biochem*, 2005, 40(3/4): 1085-1088.
- [8] Kataoka H. Derivatization reactions for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis [J]. *J Chromatogr A*, 1996, 733(1/2): 19-34.
- [9] Qin Y, Luo S, Geng S, *et al.* Degradation and mineralization of aniline by O₃/Fenton process enhanced using high-gravity technology [J]. *Chin J Chem Eng*, 2018, 26(7): 1444-1450.
- [10] Palmiotto G, Pieraccini G, Moneti G, *et al.* Determination of the levels of aromatic amines in indoor and outdoor air in Italy [J]. *Chemosphere*, 2001, 43(3): 355-361.
- [11] 张晓飞, 孙秉琳, 张华, 等. 苯胺废水光催化过氧化氢协同氧化处理技术研究 [J]. *现代化工*, 2016, 36(6): 126-128.
- [12] Li H P, Wang L X. Simultaneous determination of phenylamine and phenol in waste water by different ultraviolet spectrophotometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2010, 29(12): 90-96.
- [13] 刘鹏, 张兰英, 焦雁林, 等. 高效液相色谱法测定水中硝基苯和苯胺含量 [J]. *分析化学*, 2009, 37(5): 741-744.
- [14] Vera-Avila L E, Garcia-Ac A, Covarrubias-Herrera R. Trace-level determination of benzidine and 3,3'-dichlorobenzidine in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction and liquid chromatography with electrochemical detection [J]. *J Chromatogr Sci*, 2001, 39(7): 301-307.
- [15] Chiang J S, Huang S D. Simultaneous derivatization and extraction of anilines in waste water with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometric detection [J]. *Talanta*, 2008, 75(1): 70-75.
- [16] Imasaka T, Tashiro K, Ishibashi N. Capillary gas chromatograph determination of aniline derivatives by supersonic jet resonance multiphoton ionization mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 1986, 58(14): 1-4.
- [17] Claesson A S, Ostin A, Sunesson A L. Development of a LC-MS/MS method for the analysis of volatile primary and secondary amines as NIT (naphthylisothiocyanate) derivatives [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, 378(4): 932-939.
- [18] Borba da Cunha A C, Lopez de Alda M J, Barcelo D, *et al.* Multianalyte determination of different classes of pesticides (acidic, triazines, phenyl ureas, anilines, organophosphates, molinate and propa-nil) by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, 378(4): 940-954.
- [19] He C, He Q, Chen Q, *et al.* Highly fluorescent intramolecular dimmers of two pyrenyl-substituted fluorenes bridged by 1,6-hexan-yl: Synthesis, spectroscopic, and self-organized properties [J]. *Tetrahedron Lett*, 2010, 51(9): 1317-1321.
- [20] Chen L, Gao Y, Wang Y, *et al.* Femtogram level detection of nitrate ester explosives via an 8-pyrenyl-substituted fluorene dimer bridged by a 1,6-hexan-yl unit [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(11): 8817-8823.
- [21] Fan T, Xu W, Yao J, *et al.* Naked-eye visible solid illicit drug detection at picogram level via a multiple-anchored fluorescent probe [J]. *ACS Sensors*, 2016, 1(3): 312-317.
- [22] Liu A, Liu H, Peng X, *et al.* Direct and ultrasensitive fluorescence detection of PETN vapor based on a fluorene-dimer probe via a synergic backbone and side-chain tuning [J]. *Analytical Methods*, 2018, 10(22): 2567-2574. ■