

一种新型铱(III)配合物的合成与 荧光淬灭测试

刘九州^{1,2}, 王磊^{1,2}, 杨俊俊³, 霍思阳¹, 李新霞^{1,2*}

(1.新疆医科大学药学院, 新疆乌鲁木齐 830017;

2.新疆天然药物活性组分与释药技术重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830017;

3.乌鲁木齐高新技术产业开发区(乌鲁木齐市新市区)创业服务中心, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要:以 1-苯基异喹啉为环金属配体, 以三氟-1-(2-呋喃基)-1,3-丁二酮为辅助配体, 合成了一种新型金属铱磷光配合物 $\text{Ir}(\text{piq})_2(\text{tffbd})$, 并通过核磁共振谱、质谱表征确认了目标产物的化学结构, 测得其在乙醇溶液中荧光光谱的发射光峰值在 406、429、602 nm。并测试了铱配合物与胶体金的相互作用: 动态荧光效应观察到铱配合物 $\text{Ir}(\text{piq})_2(\text{tffbd})$ 的荧光强度随着胶体金的逐量增加而先增强后减弱; 第一、第二内过滤荧光淬灭检测, 荧光淬灭程度随胶体金浓度增加而增强。为铱配合物应用在溶液体系荧光免疫检测及背景荧光淬灭检测提供了数据基础。

关键词: 铱; 胶体金; 荧光淬灭; 内过滤

中图分类号: TH3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2025)08-0130-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2025.08.024

Synthesis and fluorescence quenching test of a novel iridium(III) complex

LIU Jiu-zhou^{1,2}, WANG Lei^{1,2}, YANG Jun-jun³, HUO Si-yang¹, LI Xin-xia^{1,2*}

(1.College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China; 2.Xinjiang Key Laboratory of

Natural Medicine Active Components and Drug Release Technology, Urumqi 830017, China;

3.Entrepreneurship Service Center, Urumqi High-tech Industrial Development Zone, Urumqi 830011, China)

Abstract: A novel iridium phosphorescent complex, $\text{Ir}(\text{piq})_2(\text{tffbd})$, is synthesized through using 1-phenylisoquinoline as the cyclic metal ligand and trifluoroacet-1-(2-furanyl)-1,3-butanedione as the auxiliary ligand. The chemical structure of the target product is confirmed by means of nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry characterization. The emission peaks of its fluorescence spectrum in ethanol solution are measured at 406 nm, 429 nm, and 602 nm. The interaction between iridium complex and colloidal gold is tested. It is found through dynamic fluorescence effect that the fluorescence intensity of $\text{Ir}(\text{piq})_2(\text{tffbd})$ firstly increases and decreases then with the increasing amount of colloidal gold. It is shown by the first and second internal filtration fluorescence quenching detection that the fluorescence quenching degree boosts up with the increasing colloidal gold concentration. This study provides a data foundation for the application of iridium complexes in solution based fluorescence immunoassay and background fluorescence quenching detection.

Key words: iridium; colloidal gold; fluorescence quenching; internal filtration

背景荧光淬灭-免疫层析技术(bFQICA)是在胶体金免疫层析技术(GICA)基础上建立起来的一种分析技术,它通过利用荧光标记物质的淬灭现象来提高检测的灵敏度^[1-2],为疾病的早期发现和治理提供了新的可能。该技术的核心在于荧光探针的设计以及荧光信号的精确读取,直接关系到检测结果的准确性和可靠性。学者们积极探索胶体金的合成方法和荧光淬灭机制,以及它们在临床诊断、食品安全检测等方面的应用^[3-5]。然而,如何选取合适

的背景荧光材料,进一步提高胶体金的荧光淬灭效率,以及如何通过优化胶体金与荧光标记物的相互作用来提升检测灵敏度,仍然是当前研究的热点和难点^[6-7]。

本文以 1-苯基异喹啉为环金属配体,三氟-1-(2-呋喃基)-1,3-丁二酮为辅助配体,合成了一种新型金属铱磷光配合物。采用核磁共振谱、质谱表征对其结构进行确认,测定了其光致发光光谱。研究了铱配合物与胶体金之间的相互作用,包括动态

收稿日期:2024-11-11;修回日期:2025-06-05

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C283)

作者简介:刘九州(1991-),男,硕士,实验师,研究方向为有机功能材料合成研究,952011226@qq.com;李新霞(1979-),女,博士,教授,研究方向为药物分析,通讯联系人,2275119322@qq.com。

荧光效应与第一、第二内过滤荧光淬灭效应。通过优化探针与淬灭剂的配比,以实现更高的荧光淬灭程度,以期达到或超过现有技术水平^[8-9]。为铱(III)配合物磷光材料应用于背景荧光淬灭免疫层析分析方法提供数据支撑,将筛选出的铱配合物作为背景荧光材料,可进一步提高检测灵敏度。

1 实验

1.1 实验材料及仪器

二氯甲烷,乙二醇二甲醚,乙醇,石油醚,乙酸乙酯,柠檬酸钠,无水碳酸钠(分析纯,天津市鑫铂特化工有限公司);1-苯基异喹啉,三氟-1-(2-呋喃基)-1,3-丁二酮,三氯化铱(III)水合物,氯金酸(上海阿拉丁生化股份有限公司)。

紫外-可见分光光度计(T6新世纪,北京普析);荧光分光光度计(RF-6000,日本岛津);标准加热型磁力搅拌器(MS-H-S,DLAB大龙);超导核磁共振波谱仪(Varian Inova-400 MHz,美国VARIAN安公司);超高效液相色谱/高分辨质谱/质谱联用仪(UPLC/MS,ThermoFisher Scientific Ultimate 3000/Q-Exactive)。

1.2 配合物 $\text{Ir}(\text{piq})_2(\text{tffbd})$ 的合成

将1-苯基异喹啉(160.4 mg)、DME(6 mL)、蒸馏水(2 mL)、 $\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (65.7 mg)加入25 mL封管中,并充入氮气鼓泡1 min,拧紧塞子用磁力搅拌器边加热边搅拌,在110℃的条件下加热至回流6 h,冷却至室温后将产物减压抽滤,并用乙醇(8 mL×3)和蒸馏水(5 mL×3)洗涤,抽滤至充分干燥。在25 mL封管中加入二聚体(300.1 mg)、三氟-1-(2-呋喃基)-1,3-丁二酮(97.0 mg)、乙二醇二甲醚(6 mL)和无水碳酸钠(149.7 mg),充入氮气鼓泡1 min,并拧紧塞子边加热边搅拌,在温度110℃的条件下加热至回流6 h,反应温度冷却至室温。通过柱色谱的方式进行分离纯化(石油醚:乙酸乙酯=10:1, $v:v$),得到101 mg红色固体,收率为66%^[10](图1)。¹H-NMR(600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 9.12~8.98(m, 2H), 8.32(dd, $J=6.3, 1.3$ Hz, 2H), 8.31~8.25(m, 2H), 8.18~8.11(m, 2H), 7.97~7.84(m, 7H), 7.37(d, $J=3.5$ Hz, 1H), 6.94(dtd, $J=13.0, 8.3, 7.7, 1.4$ Hz, 2H), 6.67(dtd, $J=16.2, 7.4, 1.3$ Hz, 2H), 6.59(dd, $J=3.7, 1.7$ Hz, 1H), 6.29~6.21(m, 2H), 6.17(dd, $J=7.7, 1.4$ Hz, 1H)。¹⁹F-NMR(565 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 外标法, 三氟乙酸), δ : 4.22(s)。ESI MASS: 808.15[M+H]。

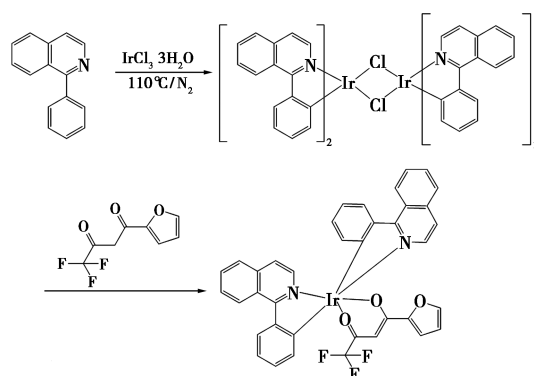


图1 配合物的合成过程

1.3 胶体金的制备

将1.0 g氯金酸加入烧杯中,加入少许蒸馏水搅拌均匀,随后转移到100 mL容量瓶中,烧杯用蒸馏水少量多次润洗转移到容量瓶中,定容,摇匀。精密称定1.0 g柠檬酸钠至另一个100 mL容量瓶,加入蒸馏水,定容,摇匀。另取容量为250 mL的圆底烧瓶,分别加入1 mL 1% HAuCl_4 溶液和99 mL蒸馏水,加热至沸腾,快速加入0.2 mL 1%柠檬酸钠溶液,快速搅拌均匀,当溶液变成酒红色且不褪色时,持续加热15 min后停止加热,继续搅拌上述溶液直至冷却到室温,装入洁净玻璃瓶中并编号,即制备得到胶体金,4℃避光保存,备用。

1.4 胶体金和铱配合物的荧光淬灭检测

动态荧光淬灭检测:向石英比色皿中加入2 mL铱配合物,放入荧光分光光度计进行检测,得到铱配合物初始荧光强度,随后快速依次等梯度加入适量胶体金并测量荧光强度(加入相同体积溶剂作为空白对照进行扣除),观察扣除空白后荧光强度变化。

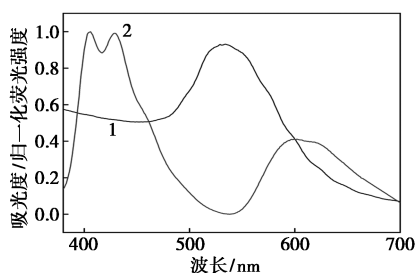
第一、第二内过滤荧光淬灭检测:采用三杯法,向石英比色皿中加入3 mL铱配合物,放入荧光分光光度计进行检测,得到铱配合物初始荧光强度,另取一石英比色皿加入适量蒸馏水,分别放置于激发光和发射光处检测荧光强度,得到背景荧光。然后把蒸馏水换成胶体金,依照一定浓度梯度对胶体金进行稀释,每稀释一次进行一次第一、第二内过滤荧光淬灭检测,观察荧光强度变化。

2 结果与讨论

2.1 铱配合物光致发光光谱与胶体金紫外-可见光谱分析

在室温下,测定了铱配合物在乙醇溶液中的荧光光谱,激发光波长为350.0 nm,发射光谱如图2。

从发射光谱得出,配合物发射光峰值在 406、429、602 nm。由胶体金的紫外-可见吸收光谱图可知,胶体金在 380~700 nm 均有吸收,在 534 nm 吸收达到峰值。结合铈配合物的荧光发射光谱与胶体金紫外-可见吸收光谱,可见在波长 429.0、600.0 nm 处有最大重叠,所以荧光淬灭检测实验测定选择发射光波长为 600.0 nm 的荧光强度进行测定;内过滤荧光淬灭实验选择发射波长为 429.0、600.0 nm 的荧光强度进行测定。

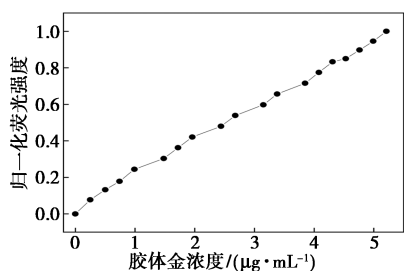


1—胶体金紫外-可见吸收光谱;2—铈配合物光致发光光谱

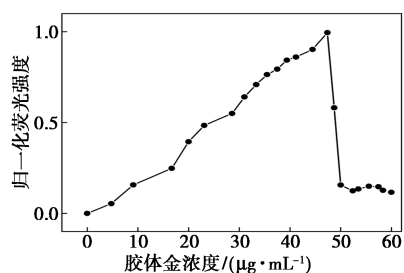
图 2 铈配合物光致发光光谱与胶体金紫外-可见光谱

2.2 动态荧光效应检测

向 2 mL 铈配合物乙醇溶液 (38.4 μg/mL) 逐次加入 5 μL 胶体金,分别测量荧光强度(以相同体积溶剂加入后的荧光强度作为空白进行扣除),变化趋势如图 3。随着胶体金浓度逐渐增加,荧光强度呈现出明显的上升趋势。这种增长趋势反映了胶体金与荧光标记物之间可能发生的正向相互作用,其中胶体金的表面等离子体共振效应可能促进了荧光



(a) 逐次加入 5 μL 胶体金荧光强度变化(扣除空白)



(b) 逐次加入 100 μL 胶体金荧光强度变化(扣除空白)

图 3 动态荧光强度变化图

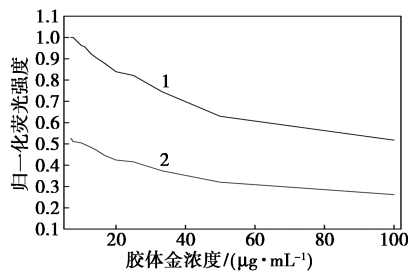
信号的增强。由图可见,加入胶体金在低浓度范围内时,荧光强度与胶体金浓度具有较好的线性关系。

向 2 mL 铈配合物溶液 (38.4 μg/mL) 逐次加入 100 μL 胶体金,实验中荧光强度(以相同体积溶剂加入后的荧光强度作为空白进行扣除)随着胶体金浓度的增加而变化,呈现出一个明显的上升而后下降的趋势。在胶体金浓度从 0 增加至 47.4 μg/mL 的过程中,荧光强度稳步增长,这可能是由于胶体金的表面等离子体共振效应大于荧光淬灭效应,从而增强了荧光信号。荧光强度的峰值出现在胶体金浓度为 47.4 μg/mL 时,当胶体金浓度继续增加,荧光强度开始下降,这一转折点标志着荧光淬灭效应开始占主导地位。特别是在 47.4~50.0 μg/mL 之间时,荧光强度开始显著下降,这一现象明确指向了荧光淬灭效应的显著性增强,荧光强度的急剧降低,可能与胶体金浓度的进一步增加,导致荧光分子与金颗粒之间的非辐射能量转移显著增强有关。随着胶体金浓度继续增加至 60.0 μg/mL,荧光强度趋于稳定,暗示在此浓度下铈配合物与胶体金之间的相互作用几乎达到平衡状态。这些观察结果对于理解和优化荧光检测技术,特别是在确定胶体金的最佳使用浓度以获得最佳荧光信号方面,提供了重要的实验依据。

2.3 第一、第二内过滤荧光淬灭检测

第一内过滤荧光淬灭检测:激发光照射到铈配合物时,溶液中胶体金的吸收光谱与铈配合物的激发光谱有重叠,到达铈配合物的激发光强度产生了减弱,导致铈配合物激发效率下降,从而降低荧光强度。由图 4(a)可知,随着胶体金浓度的增加,荧光信号均逐渐降低,发生了荧光淬灭。

第二内过滤荧光淬灭检测:铈配合物被激发后发射出荧光,溶液中的胶体金吸收光谱与铈配合物的发射光谱有重叠,发射光被胶体金吸收,导致检测到的荧光信号减弱。由图 4(b)可知,随着胶体金浓度的增加,荧光信号均逐渐降低,发生了荧光淬灭。



(a) 第一内过滤

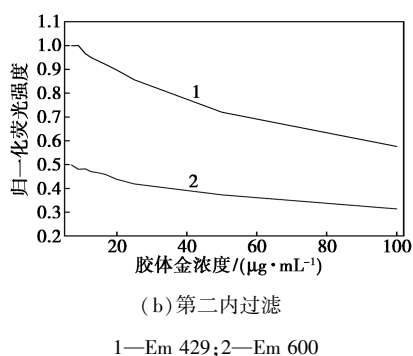


图4 内过滤荧光淬灭检测图

通过计算 F_1 (淬灭后的荧光强度) 与 F_0 (背景

表1 胶体金内过滤荧光淬灭检测 F_1/F_0 值

浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)		7.0	10.0	12.7	16.7	25.0	33.3	50.0	100.0
第一内过滤	Em 429	0.7976	0.7676	0.7384	0.7011	0.6551	0.5940	0.5025	0.4129
	Em 600	0.8492	0.8145	0.7836	0.7201	0.6715	0.6028	0.5171	0.4225
第二内过滤	Em 429	0.8074	0.7798	0.7673	0.7449	0.6920	0.6020	0.5820	0.4655
	Em 600	0.8453	0.8135	0.7974	0.7780	0.7097	0.6348	0.6322	0.5317

3 结论

以1-苯基异喹啉为环金属配体,以三氟-1-(2-咪唑基)-1,3-丁二酮为辅助配体,合成了一种新型金属铈磷光配合物,并通过核磁共振谱、质谱表征确认了目标产物的化学结构,测得在乙醇溶液中荧光光谱的发射光峰值在406、429、602 nm。

研究探讨了磷光铈配合物与胶体金的动态荧光效应及第一、第二内过滤荧光淬灭效应。动态荧光效应实验中,通过逐步向铈配合物中引入定量的胶体金,并通过连续测量监测了荧光强度的相应变化,观察到荧光强度随着胶体金的逐量增加而先增强后减弱,其中在胶体金浓度达到47.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 前,荧光信号得到增强,由于胶体金的表面等离子体共振效应促进了荧光标记物的发光。然而,超过这一临界值后,荧光强度开始减少,荧光淬灭效应显著。实验结果揭示了胶体金浓度与荧光信号强度之间的最佳平衡点,超过该平衡点荧光淬灭效应变得尤为明显,可能与非辐射能量转移增强有关。第一、第二内过滤荧光淬灭效应实验中,通过量化 F_1/F_0 比值,确认了荧光淬灭程度随胶体金浓度增加而增强。所以当磷光铈配合物与胶体金在同一体系中时,胶体金的荧光增强效应占据主导作用,荧光信号增强,可应用在溶液体系检测系统中;不同体系中时,胶体金的荧光淬灭效应占据主导作用,荧光信号减弱,可应用在

荧光强度)的比值,进一步量化了胶体金内过滤荧光淬灭的程度, F_1/F_0 值见表1。可见随着胶体金浓度的增大, F_1/F_0 的比值逐渐减小,表示荧光淬灭程度不断增大,这一现象在两种内过滤检测中均有体现:第一内过滤中,胶体金吸收了与铈配合物激发光谱重叠的光,减弱了激发光强度;第二内过滤中,胶体金吸收了铈配合物发射的荧光,导致荧光信号减弱。随着胶体金浓度增大,两种内过滤效应均呈现增强趋势。所以胶体金浓度在7.0~100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,荧光淬灭效应与胶体金浓度正相关。

背景荧光检测体系。

参考文献

- [1] Lv Y, Fan J, Zhao M, et al. Recent advances in quantum dot-based fluorescence-linked immunosorbent assays [J]. *Nanoscale*, 2023, 15 (12): 5560-5578.
- [2] 董旭旭, 孙威, 曹攀, 等. 胶体金免疫层析试纸条技术在病毒检测领域的应用研究现状 [J]. *生物工程学报*, 2022, 38 (9): 3243-3254.
- [3] 刘建龙. 荧光标记免疫层析技术在食品安全检测中的应用研究 [J]. *食品安全导刊*, 2019, (27): 131.
- [4] 郭畅. 背景荧光淬灭-竞争免疫层析技术在毒品检测中的应用 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2021.
- [5] 闫海兴, 袁子钦, 袁嘉康, 等. 胶体金免疫层析试纸条在生物毒素检测领域的研究进展 [J]. *饲料工业*, 2024, 45 (5): 134-140.
- [6] 马雪红, 吴晓霞, 肖文浚, 等. 背景荧光淬灭免疫层析测定牛奶中林可霉素 [J]. *药物分析杂志*, 2019, 39 (12): 2178-2183.
- [7] Liu J, Yang B, Niu S, et al. Rapid detection of chlortetracycline and metacycline in food based on the fluorescence quenching effect of ZnS@CdS quantum dots [J]. *Food Bioscience*, 2024, 59: 104031.
- [8] Qbm A, La L, Jcy A, et al. The novel synthesis of trisyclometalated iridium (III) complexes for saturated red organic light-emitting diodes with low efficiency roll-off [J]. *Dyes and Pigments*, 2021, 191: 109360.
- [9] 郭畅, 周浩, 许芳, 等. 背景荧光淬灭-免疫层析法定量检测唾液中的安非他明 [J]. *化学与生物工程*, 2020, 37 (8): 57-62.
- [10] 刘九州, 木牙萨·艾散, 关庆娟. 一种有机金属配合物及其制备方法和应用; CN 116789709A [P]. 2023-09-22. ■