

水杨醛缩苯乙酰肼对锌离子的高选择性识别

吴舜华^{1,2}, 薛王欣²

(1. 龙岩学院 化学与材料学院, 福建 龙岩 364000; 2. 厦门大学化学化工学院化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 设计合成了用于识别锌离子的荧光传感分子——水杨醛缩苯乙酰肼(**1**), 通过红外光谱、核磁共振谱和质谱表征其结构; 利用其荧光性质研究了该物质对几种过渡金属离子的识别性质, 初步探讨了其结合模式。实验表明: 在乙腈介质中, 主体分子**1**表现出对 Zn^{2+} 良好的选择性, Zn^{2+} 的加入导致**1**的长波长荧光增强437倍, 而其它过渡金属只引起**1**的荧光略微增强, Job法实验揭示**1**与 Zn^{2+} 的结合比为1:1。

关键词: 水杨醛缩苯乙酰肼; 锌离子; 荧光传感; 分子识别

中图分类号: O 657.39 文献标志码: A

文章编号: 0367-6358(2009)09-0529-03

Highly Selective Recognition of Zinc Ion by Salicylaldehyde-2-phenylacetylhydrazone

WU Lin-hua^{1,2}, XUE Wang-xin²

(1. Department of Chemical and Materials Engineering, Longyan University, Fujian Longyan 364000, China;

2. Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Fujian Xiamen 361005, China)

Abstract: A fluorescent chemosensor, salicylaldehyde-2-phenylacetylhydrazone (**1**), was designed and synthesized. **1** was confirmed by IR, ¹H NMR and ESI-MS. **1** was found to recognize transition metal ions such as Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} and Ni^{2+} via its fluorescence spectra. Mechanism of enhancement of **1**'s fluorescence by Zn^{2+} was briefly discussed. It was found that **1** showed a highly selective response to Zn^{2+} . In acetonitrile Zn^{2+} induced a dramatic enhancement in the fluorescence of **1** by 437 folds, whereas the other transition metal ions had little influence. Job's test showed **1** coordinated with Zn^{2+} to form 1:1 model complex.

Key words: salicylaldehyde-2-phenylacetylhydrazone; Zn^{2+} ; fluorescence enhancement; molecular recognition

过渡金属离子在环境和生命科学中发挥着重要的作用, 设计和合成对过渡金属离子具有选择性识别功能的受体分子近年来备受关注^[1-5]。由于荧光内在的高灵敏度、可实时及可实现远程检测等优越性, 荧光传感在分子识别中得到迅速发展。水杨醛苯甲酰肼衍生物是一类良好的金属离子配体, 该类分子可通过羰基氧原子、亚氨基氮原子和羟基氧原

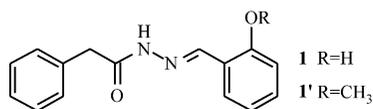
子与金属离子形成三齿配合物^[6-8], 常被用于检测金属离子。利用该类分子与金属离子配位作用的差异, 通过改变苯环上取代基从而调节其配位能力可望实现对金属离子的选择性识别。本文将常用的苯甲酰基替换为苯乙酰基, 使羰基氧原子电荷密度增大, 以期改善其对金属离子配位强度和选择性, 设计合成了荧光传感主体分子——水杨醛缩苯乙酰肼

收稿日期: 2009-03-20; 修回日期: 2009-07-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20675069)

作者简介: 吴舜华(1962~), 男, 副教授, 主要研究方向为超分子化学。E-mail: wulh1@163.com

(1)和模型化合物邻甲氧基苯甲醛缩苯乙酰肼(1')



1 实验部分

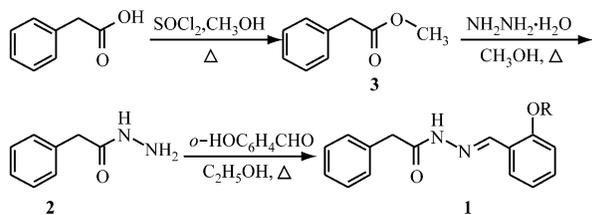
1.1 仪器与试剂

Hitachi F-4500 荧光光谱仪, Nicolet Avatar FT IR 360 红外光谱仪 (KBr 压片), Bruker 400 MHz, ¹H NMR 核磁共振波谱仪, Bruker Esquire-3000⁺ MS 质谱仪。

所用试剂均为分析纯。苯乙酸、80%水合肼、氯化亚砷、水杨醛、邻甲氧基苯甲醛、氢氧化钠、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、甲醇和乙醇, 以上试剂均为上海化学试剂公司产品。乙腈在使用前经重新蒸馏纯化, 并经检验无荧光杂质。受体分子储备溶液为乙腈溶液; 阳离子 Zn²⁺、Cu²⁺、Hg²⁺、Pb²⁺ 和 Ni²⁺ 均为高氯酸盐的乙腈溶液, 浓度为 1.0 × 10⁻² mol/L。

1.2 主体分子的合成与表征

主体分子的合成路线如下所示:



苯乙酰肼的合成(2): 8.16 g (0.06 mol) 苯乙酸溶于 30 mL 甲醇, 在冰浴下加入 10 mL 氯化亚砷(过量), 冰浴中搅拌 15 min, 再室温搅拌 30 min, 加热回流 2~3 h。旋转蒸干甲醇和氯化亚砷, 得无色油状液体, 用氢氧化钠调节 pH 值至中性后, 用二氯甲烷萃取, 水洗 3 次, 室温放置, 让二氯甲烷自然挥发得苯乙酸甲酯(3); 在苯乙酸甲酯中加入 10 mL 甲醇, 滴加 10 mL 水合肼, 100 °C 回流冷凝 2~3 h, 敞口使水合肼逸出。室温放置后倒入洗净的烧杯中, 有无色针状固体析出, 用 95% 乙醇洗涤, 自然凉干, 得无色针状的苯乙酰肼固体。

主体分子水杨醛缩苯乙酰肼(1)的合成: 0.75 g (5 mmol) 苯乙酰肼溶于 10 mL 乙醇, 滴加入 0.5 mL 水杨醛, 回流 1 h, 过滤, 得黄色固体; 用乙醇加热溶解之, 用石油醚: 乙酸乙酯=4:1(v/v) 为展开剂过柱, 收集第二个点, 蒸干溶剂后得白色针状筒体 0.78 g, 产率 61.3%。

模型化合物邻甲氧基苯甲醛缩苯乙酰肼(1')的合成: 取 0.75 g (5 mmol) 苯乙酰肼, 加入 10 mL 乙醇溶解, 滴加 0.5 mL 邻甲氧基苯甲醛, 回流 1 h, 过

滤得黄色固体, 用乙醇重结晶, 并用 95% 乙醇-水洗涤, 自然凉干得白色晶体 1.12 g。产率 83.5%。

所得主体分子 1 和模型化合物 1' 用 ¹H NMR、IR 和 ESI-MS 进行表征。¹H NMR δ × 10⁻⁶: 3.448(s, 2H), 6.913~6.853(m, 2H), 7.334~7.218(m, 4H), 7.511(t, 1H, J=7.2 Hz), 7.692(d, 1H, J=7.6 Hz), 7.991(d, 1H, J=7.0 Hz), 8.459(s, 1H), 11.087(s, 1H), 11.842(s, 1H); IR (KBr) ν_{max}/cm⁻¹: 3421, 3254, 3025, 1642, 1605, 1288; ESI-MS (m/z): 255.1 (M + H⁺, MeOH)。^{1'}H NMR δ × 10⁻⁶: 3.434(s, 2H), 3.838(s, 3H), 6.823~6.813(m, 2H), 7.364~7.116(m, 4H), 7.491(t, 1H, J=7.0 Hz), 7.762(d, 1H, J=7.4 Hz), 8.091(d, 1H, J=7.3 Hz), 8.519(s, 1H), 11.734(s, 1H); IR (KBr) ν_{max}/cm⁻¹: 3284, 3031, 1638, 1611, 1291, 1253; ESI-MS (m/z): 269.2 (M + H⁺, MeOH)。

1.3 实验方法

在 1.0 cm 石英液池中, 加入 1.98 mL 色谱纯的乙腈(经测定无荧光杂质), 再加入 20.0 μL 2.0 × 10⁻³ mol/L 1(或 1') 的乙腈溶液, 混合均匀后进行光谱测定, 随后再通过微量注射器依次加入不同体积的 1.0 × 10⁻² mol/L 的金属离子(高氯酸盐)标准溶液, 并以 λ_{ex} = 290 nm 测定荧光光谱。

2 结果与讨论

2.1 阳离子客体诱导主体分子荧光光谱的变化

主体分子 1 在乙腈中有极弱的双重荧光发射峰, 短波长发射峰位于 370 nm 处, 长波长发射峰位于 520 nm 处, 长波长发射峰归属于激发态分子内质子转移⁹。

从乙腈中 1 的荧光光谱随 Zn²⁺ 浓度的变化轨迹(图 1)可看出, 随 Zn²⁺ 浓度的提高, 1 的荧光显著增强, 增强倍率高达 437, 同时伴随荧光峰的蓝移(由 520 nm 蓝移至 476 nm), 表明受体分子 1 的荧光光谱对 Zn²⁺ 具有高灵敏度的响应。相同条件下, 其它 4 种过渡金属离子(Cu²⁺、Hg²⁺、Pb²⁺ 和 Ni²⁺) 引起 1 的荧光增强幅度很小(图 2), 该结果表明, 主体分子 1 激发态时与 Zn²⁺ 的配位作用远大于与其它 4 种过渡金属离子的配位作用, 即激发态时主体分子 1 对 Zn²⁺ 具有高选择性识别作用。

表 1 给出相同量的过渡金属离子引起 1 荧光增强的倍率, 结果表明, 1 的荧光光谱显示出对 Zn²⁺ 的高选择性响应。

2.2 识别机理探讨

为了阐明这一识别机理, 设计了模型化合物 1'。实验发现, 在乙腈中, 50 倍量于 1' 的 Zn²⁺ 存在

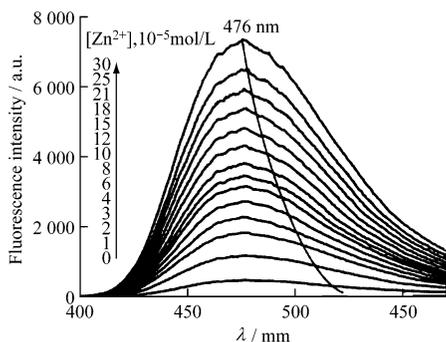


图 1 乙腈中 Zn^{2+} 存在时 **1** 的荧光光谱
 $[1] = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $\lambda_{ex} = 290 \text{ nm}$

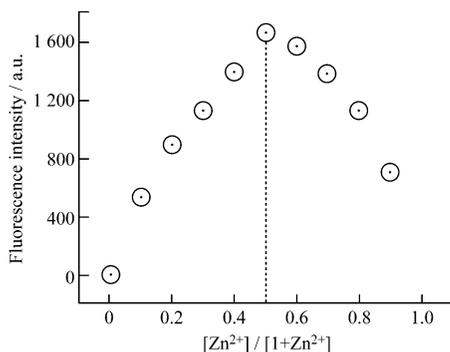


图 4 乙腈中 **1** 和 Zn^{2+} 的 Job 曲线
 $[1] + [Zn^{2+}] = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

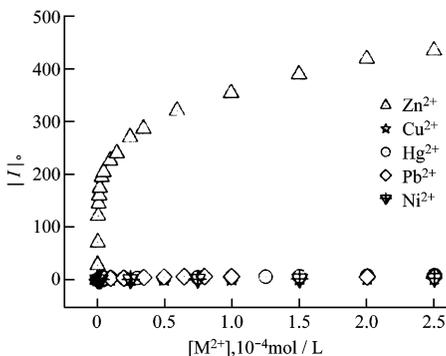


图 2 乙腈中 **1** 的荧光增强倍数与金属离子浓度关系曲线
 $[1] = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $\lambda_{ex} = 290 \text{ nm}$

表 1 乙腈中 **12.5eq** 过渡金属离子引起 **1** 荧光增强倍数¹⁾

	1	1-Zn²⁺	1-Cu²⁺	1-Hg²⁺	1-Pb²⁺	1-Ni²⁺
λ_{em}	520	476	475	478	476	480
I/I_0^2	1	437	8.2	18.5	12.6	1.6

1) $[1] = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$,

2) Fluorescence enhancement factor

时, **1'** 的荧光光谱未见明显变化(图 3b)。表明 **1** 中新荧光峰的出现与羟基质子的存在有关。等摩尔连续变化法(Job plot)^[10] 揭示主体分子 **1** 与 Zn^{2+} 以 1 : 1 化学计量比配位(图 4)。因此, 推测主体分子 **1** 可能通过羰基氧原子、亚氨基氮原子和羟基氧原子形成三齿配合物^[8]。

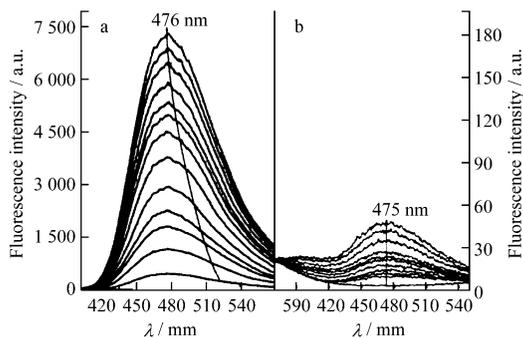


图 3 乙腈中 Zn^{2+} 存在时 **1**(a) 和 **1'**(b) 的荧光光谱比较
 $[1] = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $[2] = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

Zn^{2+} 诱导主体分子 **1** 的荧光增强和峰位置蓝移的可能原因^[11]: (1) 主体分子 **1** 中存在激发态的分子内质子转移通道, Zn^{2+} 的加入抑制了激发态的分子内转移, 荧光量子产率得到大幅提高且荧光峰发生明显蓝移; (2) 主体分子 **1** 的最低激发态为 $n\pi^*$, Zn^{2+} 与羰基氧配位, 致使主体分子的态 $n\pi^*$ 态能量升高, 其 $\pi\pi^*$ 成为最低激发态, 因而荧光量子产率得到提高; (3) 主体分子 **1** 与 Zn^{2+} 发生配位作用后, 分子刚性增大, 导致非辐射跃迁几率减小, 荧光量子产率提高。但主体分子 **1** 的荧光光谱对 Zn^{2+} 的高选择性响应的确切原因尚待进一步研究。

3 结论

本文设计合成的主体分子水杨醛缩苯乙酰脲(1) 激发态时对 Zn^{2+} 表现出高的识别选择性。荧光增强可能源于主体分子 **1** 与 Zn^{2+} 的配位致使其分子刚性增大、激发态分子内质子转移通道受阻和 $n\pi^*$ 态能级升高等因素。该研究为设计与合成选择性识别过渡金属离子的荧光传感主体分子具有一定的意义。

参考文献:

[1] de Silva A P, Gunaratne H Q N, Gunlaugsson T, *et al.* Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches[J]. *Chem Rev*, 1997, 97(5): 1515-1566.

[2] Valeur B, Leray I. Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition[J]. *Coord Chem Rev*, 2000, 205: 3-40.

[3] Bag B, Bhadraraj P K. Cryptand-based fluorescence signaling systems: High enhancement with transition, inner-transition as well as heavy main-group metal ions[J]. *Journal of Luminescence*, 2004, 110: 85-94.

(下转第 539 页)

55 °C水浴上加热皂化 40 min。其余条件不变,结果如图 5。

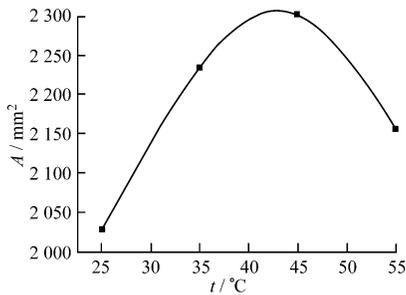


图 5 皂化温度对提取效果的影响

图 5 表明, 45 °C的效果较好。是由于温度低, 皂化反应慢, 而温度过高又会使叶黄素分解, 并且溶剂挥发也加剧。因此, 皂化温度控制在 45 °C为宜。

2.4 稳定性

准确吸取样品溶液 6 μL 在薄层板上点样展开后, 对同一叶黄素斑点每 30 min 扫描一次, 共 5 次, 测定叶黄素峰面积的 RSD 为 2.06%, 表明供试样品溶液在 2 h 内稳定。

2.5 精密度与回收率

准确吸取样品溶液 6 μL , 于同一薄层板上重复点样 5 次, 展开后叶黄素峰面积的 RSD 为 3.8%。于 5 块不同薄层板上重复点样, 展开后叶黄素峰面积的 RSD 为 4.3%。

采用加样回收的方法, 在已知叶黄素含量的 4 份样品中加入叶黄素标准品按上述方法处理后进行测定, 本方法的平均加标回收率为 97.1 ($n=5$), RSD 为 2.1%。

3 结论

万寿菊中黄素酯的提取与皂化条件为, 提取剂正己烷-丙酮-无水乙醇-甲苯(10 : 7 : 6 : 7), 料液比

1 : 80, 皂化液 10% KOH- CH_3OH 溶液, 皂化条件 45 °C水浴 40 min, 水浴后暗处静置 80 min, 再加 8 mL正己烷并用 10% Na_2SO_4 溶液定容, 振荡后静置 30 min。

薄层扫描法测定万寿菊中叶黄素的方法: 以硅胶 G 板为固定相, 石油醚-氯仿-丙酮(12 : 5 : 4)为展开剂, 叶黄素点样范围 0.336 ~ 2.016 μL , 扫描波长 $\lambda_{\text{S}}=445\text{ nm}$, 参比波长 $\lambda_{\text{R}}=700\text{ nm}$, 进行反射法锯齿扫描。在此条件下, 叶黄素含量和检测峰面积在 0.336 ~ 2.016 μg 范围内呈良好的线形关系, 回归方程: $y=311.3098+16316.1209x$, $r=0.9967$ 。该方法精密性良好, 在样品处理好 2 h 内进行测定有良好的稳定性。并且样品用量少、操作简单、检测速度快, 检测成本低。

参考文献:

- [1] 孟 哲, 刘红云. 叶黄素简介[J]. 化学教育, 2007, (3): 3-6.
- [2] 苟 劲. 叶黄素及其应用研究[J]. 重庆师范学院学报(自然科学版), 2002, 19(2): 56-59.
- [3] 任 红, 杨 洋, 史德芳. 叶黄素在功能性食品中的应用进展[J]. 食品研究与开发, 2006 (4): 144-146.
- [4] 彭密军, 印大中, 刘立萍, 等. 万寿菊提取物中游离叶黄素的制备及纯化[J]. 食品科学, 2006 27(11): 319-322.
- [5] 陈利梅, 李德茂, 马书风. 叶黄素的研究进展[J]. 江西食品工业, 2005, (2): 28-30.
- [6] 李大婧, 刘春泉. 万寿菊叶黄素的提取及分析方法研究进展[J]. 食品科学, 2005 26 (9): 582-585.
- [7] 张 嫦, 宋 航, 何泽超, 等. 万寿菊中叶黄素的分析方法研究[J]. 四川大学学报(工程科学版), 2001, 33(6): 114-116.

(上接第 531 页)

- [4] Bdugu R. Fluorescence sensor design for transition metal ions: The role of the PIET interaction Efficiency[J]. Journal of Fluorescence, 2005, 15: 71-86.
- [5] Bag B, Bharadwaj P K. Fluorescence enhancement of a signaling system in the simultaneous presence of transition and alkali metal ions: A potential and logic gate[J]. J Phys Chem B, 2005, 109: 4377-439.
- [6] 唐 波, 王晓清, 张志德. 水杨醛-5-水杨酰脲与锌的高灵敏度荧光反应及其应用[J]. 应用化学, 1997, 2: 28-31.
- [7] Tang B, Zhang J, Chen Z-Z. Synthesis and characterization of a novel cross linking of cyclodextrin σ -vanillin benzoylhydrazone and its

selective spectrofluorimetric determination of trace amounts of zinc[J]. Spectrochim Acta A, 2003, 59: 2519-2526.

- [8] Wen Z-C, Yang R, Jiang Y-B. A highly selective charge transfer fluorophore for Cu^{2+} [J]. Chem Commun, 2006: 106-108.
- [9] Bardez E, Devol I, Larrey B *et al.* Excited-state processes in 8-hydroxyquinoline: photoinduced tautomerization and solvation effects[J]. J Phys Chem B, 1997, 101: 7786-7793.
- [10] 刘 育, 尤长城, 张衡益. 超分子化学[M]. 天津: 南开大学出版社, 2001: 613-615.
- [11] 何 慧, 李爱芳, 杨 睿, 等. 水杨醛-4-乙氧基苯甲酰脲对锌离子的高选择性识别[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(6): 808-811.