

Co²⁺ 分子荧光探针的合成与表征

张 曼 赵 敏

(赤峰学院化学化工学院,赤峰 024000)

摘 要 以乙酰乙酸乙酯和间苯二酚为原料,通过佩克曼(Pechmann)缩合反应,在催化条件下制备 4-甲基-7-羟基类香豆素。在冰乙酸中,使六次甲基四胺与 4-甲基-7-羟基类香豆素反应,控制反应温度为 90℃,得到 4-甲基-7-羟基-8-醛基类香豆素,制备的产品进一步与乙二胺在无水条件下反应生成荧光探针乙二胺缩-8-醛基类香豆素(L₁ 配体)。利用荧光光谱和紫外-可见吸收光谱对 L₁ 配体进行表征,结果表明加入 Co²⁺ 离子的 L₁ 配体紫外光谱有明显的变化,其荧光光谱发生猝灭。此探针可用于检测微量 Co²⁺ 离子。

关键词 香豆素,乙二胺,L₁ 配体,Pechmann 缩合反应,荧光探针

Synthesis and characterization of Co²⁺ molecular fluorescence probe

Zhang Man Zhao Min

(School of Chemistry and Chemical Engineering,Chifeng Institute,Chifeng 024000)

Abstract Using ethyl acetoacetate and resorcinol as raw materials,4-methyl-7-hydroxyl coumarin was prepared by Pechmann condensation reaction.In glacial acetic acid,6-methyl 4-amine and 4-methyl-7-hydroxy coumarin reacted to obtain 4-methyl-7-hydroxy aldehyde base-8-coumarin,controlled the reaction temperature at 90℃.Fluorescence probe ethylamine-8-aldehyde coumarin (L₁) was generated through ethylenediamine.From fluorescence and UV spectra,after adding Co²⁺,the UV spectra of L₁ ligand had obvious changed and the fluorescence intensity was sensitive to the response of Co²⁺ in different chemical environments.It can be used to detect Co²⁺.

Key words coumarin,ethylenediamine,L₁ ligand,Pechmann-condensation reaction,fluorescent probe

香豆素是具有芳香性的天然杂环化合物,其存在形式多种多样,现已从植物中分离出多种类香豆素化合物^[1]。该类化合物为苯并吡喃酮环状结构,具有很好的药用价值及可用于医学研究的生物活性^[2],如抗菌性、抗艾滋病毒、抗凝血功效、抗氧化性等。类香豆素化合物具有优异的光学特性,如适宜的最大激发波长和发射波长,较高的荧光量子产率、检测浓度低;其稳定性好,光物理和光化学性能便于调控,被广泛应用于化工领域的荧光增白剂、激光染料及荧光探针等光学材料领域^[3]。香豆素荧光探针被广泛应用于发色基团,不论在基础科学领域,还是在实际应用中该探针都备受关注^[4]。

微量钴离子(Co²⁺)是维生素 B₁₂ 的重要组成部分,其生理活性是通过维生素 B₁₂ 体现的,Co 是磁化效果特别好的过渡金属之一。因为磁化性能优异,Co 被用于高性能材料的开发与制造。过渡金属在

电子行业和高性能材料研究领域起支撑作用,其中 Co 最主要的用途是用于锂电池的正极材料,同时在医学上作为同位素放疗。荧光探针用于检测多种金属离子时,其检测限低、灵敏度高、方便快捷^[5]。将类香豆素荧光探针用于某些特定的过渡金属离子如 Co²⁺ 离子^[6]的检测,对医学、化学、生物及环境等学科具有重要的研究价值^[7]。秦省军等^[8]使用 H₂SO₄-SiO₂ 催化间二苯酚和乙酰乙酸乙酯,在佩克曼(Pechmann)缩合条件下合成 4-甲基-7-羟基香豆素并对其进行了表征。胡立峰等^[9]用六次甲基四胺和 4-甲基-7-羟基香豆素合成 4-甲基-7-羟基-8-醛基香豆素,并通过傅里叶变换红外光谱等分析手段进行了表征。本研究以乙酰乙酸乙酯和间苯二酚为原料,以浓硫酸为催化剂,通过系列反应合成了荧光探针乙二胺缩-8-醛基类香豆素(L₁ 配体),并对其荧光性质进行了研究。

基金项目:国家自然科学基金(21563002);内蒙古高校科研基金(NJZY19221);内蒙古自然科学基金(2015MS0201);内蒙古自治区创新训练项目(201610138006)

作者简介:张曼(1985-),女,硕士研究生,副教授,从事分子探针的合成及催化剂研究工作。

1 实验部分

1.1 原料与仪器

乙酰乙酸乙酯,沈阳华东试剂厂;间苯二酚,沈阳华东试剂厂;*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF),分析纯,天津市恒兴试剂制造有限公司;六次甲基四胺,分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

紫外-可见分光光度计(TU-1901型),北京普析通用仪器有限责任公司;傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR, Nicolet is5型),美国赛默飞世尔科技公司;荧光分光光度计(F96CP型),上海棱光技术仪器有限公司

1.2 实验步骤

1.2.1 无水四氢呋喃的制备

在100mL圆底烧瓶中加入60mL分析纯四氢呋喃,加入过量剪碎的小钠块,回流直至冷却以后没有气泡产生,钠块的体积没有变化,蒸馏得到无水四氢呋喃。

1.2.2 4-甲基-7-羟基类香豆素的合成

准确称取1.3g乙酰乙酸乙酯、1.1g间苯二酚,移至50mL锥形瓶中,用温水加热使其迅速溶解(溶解可以在磁力搅拌下,加热促进溶解)。完全溶解后将上述混合液置于冰盐浴中使其温度接近-10℃,将混合液缓慢滴加到10mL浓硫酸中,滴加过程中控制温度不高于-5℃,混合液滴加结束后于0℃反应2h,在室温下放置12h。将混合液在振荡条件下缓慢地倾入盛有15g碎冰的50mL圆底烧瓶中,析出大量黄色沉淀后抽滤,得到的固体用蒸馏水洗涤2次,再将洗涤后的固体溶解于质量分数为5%的氢氧化钠溶液(7.5mL)中,溶解完全后用浓度0.5mol/L的盐酸滴加至重新析出沉淀。沉淀完全后抽滤,用蒸馏水冲洗至滤液呈中性,抽干,在空气中晾干粗产品,用质量分数95%的乙醇溶液重结晶,得到4-甲基-7-羟基类香豆素,经计算产率为42%。

1.2.3 4-甲基-7-羟基-8-醛基类香豆素的合成

称取1.43g 4-甲基-7-羟基类香豆素和2.90g六次甲基四胺,将2种固体一同投入50mL圆底烧瓶中,加入10.8mL冰乙酸置于磁力搅拌器上搅拌,溶解后得到橙黄色液体。在水浴条件下将温度控制在90℃保持6~7h,在橙黄色液体中加入21.5mL盐酸溶液(浓盐酸与水的体积比为84:100),在相同的温度条件下反应0.5h,冷却到室温25℃将反应液倾倒在100mL水中。反应液用200mL乙醚萃取4

次;先用70mL乙醚萃取2次,再用40mL乙醚萃取2次,萃取后所得溶液用40mL饱和NaCl溶液洗涤。蒸馏脱除洗涤液中的乙醚得到粗产品,最后用乙醇重结晶,得到4-甲基-7-羟基-8-醛基类香豆素,经计算产率为21.8%。

1.2.4 荧光探针乙二胺缩-8-醛基类香豆素(L₁配体)的合成

取0.1274g 4-甲基-7-羟基-8-醛基类香豆素,将其溶入无水四氢呋喃中,再将溶于25mL无水乙醇的乙二胺(0.0066g)滴加到配制的无水四氢呋喃-4-甲基-7-羟基-8-醛基类香豆素的溶液中,待溶液变为黄色加热回流约3h,冷却到室温。滤去沉淀,滴加无水冰乙醇(在冰中冷制的无水乙醇)洗涤2次,得到纯度较高的乙二胺缩-8-醛基类香豆素(L₁配体),经计算产率为40.66%。

2 结果与讨论

2.1 FT-IR 分析

利用傅里叶变换红外光谱仪对L₁配体的结构进行表征,L₁配体的FT-IR谱图见图1。由图可知:在1725cm⁻¹和1740cm⁻¹处出现非共轭酯类酯羰基的伸缩振动峰,共轭酯羰基由于环张力较大使L₁配体向波数较大的1760cm⁻¹处位移,且在1300cm⁻¹和1050cm⁻¹处出现酯基的较宽大的强吸收峰;在1760cm⁻¹处出现的峰可能是醛羰基的伸缩振动峰;在2820~2870cm⁻¹处出现了强度相似的2个振动峰,为醛基中的C—H;1483cm⁻¹处为甲基的吸收峰,3700cm⁻¹附近为羟基中O—H的振动峰;1900cm⁻¹处为C=N双键的伸缩振动峰。由此可以确定合成的物质为L₁配体。

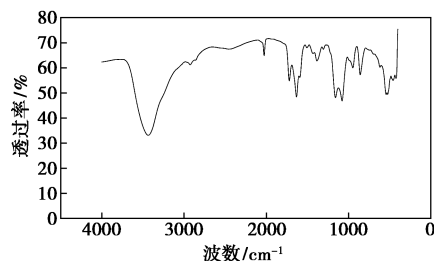


图1 L₁配体的FT-IR谱图

2.2 L₁配体的金属识别性研究

在激发波长450nm、狭缝宽度10nm、发射波长385~600nm条件下,考察L₁配体对金属离子Co²⁺、Ni²⁺、Fe³⁺、Zn²⁺、Ag⁺、Al³⁺的荧光响应特性。以DMF为溶剂,配制5mL浓度为1×10⁻⁵mol/L的L₁配体溶液,分别加入等量等浓度的

Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Al^{3+} 金属离子水溶液,利用荧光分光光度计测定 L_1 配体荧光强度,结果见图 2。由图可知, L_1 配体对 Co^{2+} 离子的荧光响应最强烈。因为加入 Co^{2+} 离子后, L_1 配体荧光值下降幅度最大,出现了荧光猝灭,但是在测定过程中 Ni^{2+} 离子出现了弱干扰。

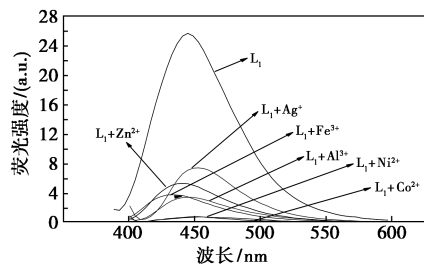


图 2 添加金属离子后 L_1 配体的荧光强度

2.3 L_1 配体对 Co^{2+} 离子的专属性研究

以 DMF 为溶剂,配制浓度为 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 L_1 配体溶液,然后将 L_1 配体溶液稀释到 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 用于实验。在室温、激发波长 450nm、狭缝宽度 10nm 条件下,加入 Co^{2+} 离子前后 L_1 配体的荧光光谱图和紫外吸收光谱图分别见图 3 和图 4。结合图 3—4 可知, Co^{2+} 离子的加入破坏了 L_1 配体的共轭结构,加入 Co^{2+} 离子的 L_1 配体其荧光光谱和紫外吸收光谱图中没有吸收峰,而 L_1 配体的荧光光谱和紫外吸收光谱图中出现较大的吸收峰,说明 L_1 配体可用于识别 Co^{2+} 离子。

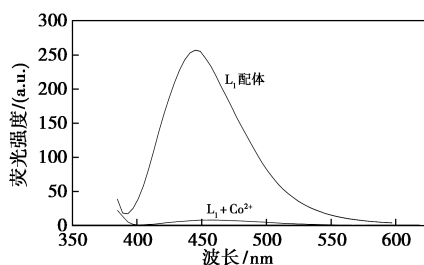


图 3 加入 Co^{2+} 离子前后 L_1 配体的荧光光谱图

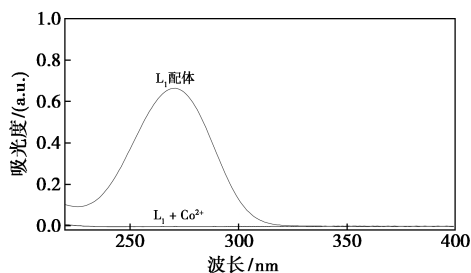


图 4 加入 Co^{2+} 离子前后 L_1 配体的紫外吸收光谱图

2.4 L_1 配体对 Co^{2+} 离子浓度的选择性研究

在 L_1 配体中分别加入浓度 1×10^{-4} 、 $1.25 \times$

10^{-4} 、 1.67×10^{-4} 、 2.5×10^{-4} 、 5.0×10^{-4} 、 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 Co^{2+} 离子,在激发波长 450nm、发射波长 391~600nm 条件下,加入不同浓度 Co^{2+} 离子的 L_1 配体的荧光光谱图见图 5。由图可知,随着 Co^{2+} 离子浓度的逐渐增加, L_1 配体的荧光强度逐渐减小; Co^{2+} 离子浓度越大,检测的效果越好。根据实验确定, Co^{2+} 离子浓度以 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 为最佳。

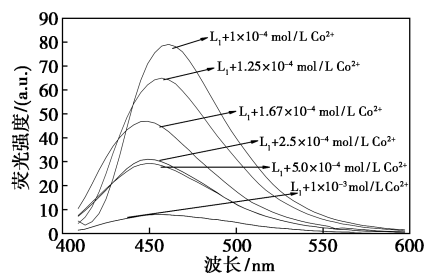


图 5 加入不同浓度 Co^{2+} 离子的 L_1 配体荧光光谱图

2.5 L_1 配体对阴离子的选择性研究

配制浓度均为 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的含不同阴离子的钴盐溶液,加入 L_1 配体,在激发波长 450nm、发射波长 391~600nm 条件下,考察含不同阴离子的钴盐对 L_1 配体荧光性的影响,结果见图 6。由图可知:加入含不同阴离子的钴盐后,钴盐阴离子体积越小, L_1 配体的荧光值下降幅度越大,即 L_1 配体对钴盐阴离子检测的灵敏度越高,效果越好。所以在检测 Co^{2+} 离子时,宜选择离子半径较小的阴离子。

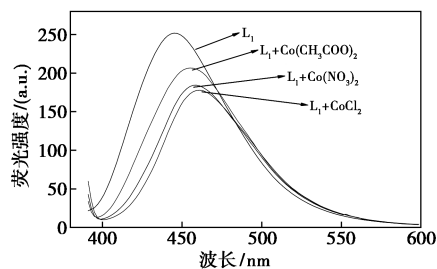


图 6 含不同阴离子的钴盐对 L_1 配体荧光性的影响

3 结论

利用浓硫酸作为催化剂,以间苯二酚和乙酰乙酸乙酯为原料,通过 Pechmann 缩合反应成功制备了 4-甲基-7-羟基类香豆素,将 4-甲基-7-羟基类香豆素与六次甲基四胺在 90°C 回流反应 6~7h,制得 4-甲基-7-羟基-8-醛基类香豆素,进而与乙二胺反应制备出 L_1 配体。荧光光谱和紫外吸收光谱表征显示: Co^{2+} 离子对 L_1 配体有荧光猝灭迹象,在 Co^{2+} 离子浓度为 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 时, L_1 配体荧光猝灭最明

(下转第 147 页)