

文章编号: 1004-4353(2014)03-0229-06

基于吡啶类半花菁染料的钯比率荧光探针

李宏达^{1,2}, 陈秀琼¹, 尹炳柱^{1*}

(1. 延边大学长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室, 吉林 延吉 133002;
2. 中国刑事警察学院 法化学系, 辽宁 沈阳 110035)

摘要: 利用 6-羟基萘-2-醛和碘化 N-乙基-2,3,3-三甲基-3H-吡啶季铵盐的缩合反应生成的羟基半花菁染料 **2** 与氯甲酸烯丙酯的反应合成了荧光比率型钯探针 **1**. 研究表明: 在含水介质中, 探针 **1** 对钯(Pd⁰ 和 Pd²⁺) 显示出很高的敏感性、选择性和抗干扰性, 其荧光比率增强大约 72 倍, 对 Pd²⁺ 的最低检测极限为 0.23 μmol/L. 探针 **1** 对钯的作用机理是钯催化碳酸烯丙酯断裂导致比率荧光变化.
关键词: 半花菁染料; 碳酸烯丙酯; 钯检测; 比率荧光探针
中图分类号: O625.25 **文献标识码:** A

A ratiometric fluorescent probe for Palladium detection based on indolium hemicyanine dye

LI Hongda^{1,2}, CHEN Xiuqiong¹, YIN Bingzhu^{1*}

(1. *Key Laboratory of Natural Resources of Changbai Mountain & Functional Molecules (Yanbian University), Ministry of Education, Yanji 133002, China*; 2. *Department of Forensic Chemistry, National Police University of China, Shenyang 110035, China*)

Abstract: A ratiometric fluorescent probe (**1**) for Palladium specieses was synthesized based on an acylation reaction of allyl chlorocarbonate and hydroxy-hemicyanine dye (**2**), which was prepared through a condensation reaction of 6-hydroxy-2-naphthaldehyde and 1-ethyl-2,3,3-trimethyl-3H-indol-1-ium iodide. Probe **1** displays rapid response, excellent selectivity and sensitivity toward Palladium species (Pd⁰ and Pd²⁺) with a low detection limit (0.23 μmol/L) in buffers and the ratio of emission intensities was changed with a 72-fold ratiometric enhancement. Importantly, the ratiometric enhancement mechanism for sensing of Palladium species ascribed to the Pd-catalysed cleavage reaction of allyl carbonate.
Key words: hemicyanine dye; allyl carbonate; Palladium detection; ratiometric fluorescence probe

0 引言

钯是珍贵的过渡金属之一,它不仅广泛应用于制作燃料电池、牙冠、珠宝及医药合成等^[1-2],而且还被用于设计制作催化转化器以有效控制汽车尾气的污染问题. 文献^[3-4]表明, Pd²⁺ 可对人体健康产生危害,例如钯积累在人体中会导致细胞线粒体和 DNA 的退化、过敏反应以及抑制酶的活

性等;因此,开发简易快捷、灵敏度高的钯检测方法具有重要意义. 传统的钯离子检测方法主要有原子吸收光谱法和电化学分析法等,但这些方法往往需要复杂的样品预处理和高成本的仪器,使其应用受到一定限制^[5-6]. 目前,荧光探针检测法因具有灵敏度高、选择性好、分析时间短及易于可视化等优点,已受到越来越多的关注. 但由于

Pd^{2+} 检测用分子探针多数是基于比色法、荧光淬灭法和荧光增强型等^[7], 其结果的精确性容易受到检测底物浓度、外部环境和仪器条件变化(如光漂白、散射和背景光)等影响^[8]. 文献[9]研究表明, 比率型荧光探针不受光源强度和仪器灵敏度等外部环境的影响, 不仅能提高方法的选择性和灵敏度, 而且还能够增大方法的动态响应范围^[9]. 目前, 利用比率型荧光探针检测钯含量的文献很少, 而且已报道的这类探针具有响应时间长^[10]、需要外加试剂^[11]等问题.

本文鉴于钯与富电子 π -电子体系有较好的亲和力^[10-12], 半花菁染料具有合成简单、易于纯化、荧光量子产率高、摩尔消光系数大以及水溶性好和无毒等优点, 以 6-羟基萘-2-醛为荧光基团, 碘化 1-乙基-2,3,3-三甲基吡啶季铵盐为菁染料单元合成了中间体: 羟基半花菁染料 **2**; 然后, 在 **2** 的羟基上引入烯丙氧羰基得到半花菁染料探针 **1** (合成路线见图 1), 并对探针对 Pd^{2+} 的检测效果和反应机理进行了研究.

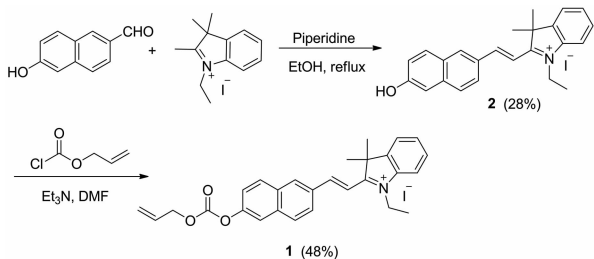


图 1 探针 **1** 的合成路线

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

熔点用 XRC-1 显微熔点仪测定(温度计未经校正); ^1H NMR 用 AV300 型超导核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司, CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标)测定; 荧光光谱用 RF-5301PC 型荧光分光光度计(日本岛津公司)测定; UV-vis 用 U-3010 紫外可见分光光度计(日本日立公司)测定; MS 用 Axima CFRTM plus 基质辅助激光解析飞行时间质谱仪(日本岛津公司)测定; 高分辨质谱用 Bruker microTOF II 聚焦光谱仪(ESI).

所有反应试剂均为市售分析纯, 购买后未经处理直接使用; 柱层析硅胶用青岛海洋化工厂产

品, 硅胶粒度为 100~200 目, pH 值为 6.5~7.0; N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-2-乙烷磺酸(HEPES)采购于阿拉丁试剂公司, 使用三次去离子水配置成 HEPES 缓冲溶液直接使用; 6-羟基萘-2-醛从百灵威试剂公司购进, 未经纯化直接使用; 碘化 1-乙基-2,3,3-三甲基-3H-吡啶季铵盐参照文献[12]的方法合成.

1.2 中间体 **2** 的合成

在 50 mL 单口瓶中加入碘化 1-乙基-2,3,3-三甲基-3H-吡啶季铵盐(300 mg, 1.74 mmol)、化合物 6-羟基萘-2-醛(658 mg, 2.1 mmol)和精制乙醇(12 mL). 待反应物完全溶解后, 加入哌啶(150 μL), 并回流搅拌 3 h, 出现大量固体, 抽滤, 用无水乙醇洗涤, 干燥. 用无水乙醇重结晶得墨绿色固体 **2** (225 mg), 产率为 28%. M. p. > 250 $^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR(300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10.48(1H, s), 8.55~8.75(2H, m), 8.32(1H, d, $J=7.2$ Hz), 7.76~8.01(4H, m), 7.60~7.76(3H, m), 7.15~7.30(2H, m), 4.74(2H, q, $J=7.0$ Hz), 1.83(6H, s), 1.48(3H, t, $J=7.0$ Hz); ^{13}C NMR(75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14.04, 26.08, 42.38, 52.44, 110.03, 111.16, 115.22, 120.40, 123.59, 125.10, 127.66, 129.59, 129.62, 129.76, 132.08, 155.12, 159.30, 174.4, 181.59. HRMS(ESI-TOF) Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{NO}^+$ ($[\text{M}]^+$) 342.1852. Found 342.1830.

1.3 探针 **1** 的合成

在 50 mL 单口瓶中加入化合物 **2** (100 mg, 0.21 mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺(8 mL), 待反应物完全溶解后, 用冰浴冷却到 0 $^{\circ}\text{C}$. 加入三乙胺(30 μL), 搅拌 5 min 中后升温至室温. 将氯甲酰丙烯酯(112 mg, 99 μL , 1.05 mmol) 和 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL) 逐滴加到反应体系中, 在室温搅拌 5 h 后, 加入适量乙醚, 析出的固体用乙醇重结晶得红色针状固体 **1** (56.2 mg), 产率为 48%. M. p. 200 $^{\circ}\text{C}$ (dec.). ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3): δ 8.83(1H, s), 8.73(1H, d, $J=15.0$ Hz), 8.49(1H, d, $J=6.9$ Hz), 7.90~8.12(3H, m), 7.83(1H, d, $J=15.0$ Hz), 7.75~7.55(4H, m), 5.99~6.30(1H, m), 5.30~5.50(2H, m), 4.76~4.81(4H, m), 1.86(6H, s), 1.51(3H, t, $J=6.6$

Hz). ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14. 28, 25. 96, 42. 90, 52. 91, 69. 51, 113. 39, 115. 77, 119. 04, 119. 55, 122. 84, 123. 66, 129. 11, 131. 23, 132. 76, 140. 90, 144. 57, 151. 02, 153. 13, 153. 94, 181. 92. HRMS (ESI-TOF) Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{INO}_3^+$ ($[\text{M}]^+$) 426. 2064. Found 426. 2056.

2 结果与讨论

2.1 溶剂的选择

考虑到探针 1 的实际应用,本文首先考察了在不同比例的乙醇-HEPES 缓冲溶液中,探针 1 ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 与 PdCl_2 ($100\text{ }\mu\text{mol/L}$) 相互作用的荧光变化. 用 566 nm 处的荧光强度做柱状图得图 2 a. 从图中可知,在乙醇-HEPES 缓冲溶液比例为 5 : 5、4 : 6、3 : 7 时,探针 1 与 PdCl_2 作用使荧光增强最为明显.

另外,本文也考察了乙醇- HEPES 缓冲溶液比例为 1 : 1 时的 pH 值对荧光发射强度的影响,

结果如图 2 b 所示. 从图中可以看出,探针 1 在 pH 值为 5~8 的范围内,其荧光强度呈现稳定状态,这说明探针 1 可以在一个相对较宽的 pH 值范围内用于检测 Pd^{2+} . 根据上述实验结果,本文选择了乙醇- HEPES 缓冲溶液比例为 1 : 1、pH 值为 7. 2 的 HEPES 缓冲溶剂体系.

2.2 探针 1 对钯离子的选择性

化学传感器的最重要性质之一是对某一分析物的高度选择性. 在乙醇- HEPES 缓冲溶液(体积比为 1 : 1, $\text{pH}=7.2$) 中加入 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ Pd^{2+} 后,探针 1 的荧光强度在几分钟内有 30 倍的荧光增强;而在相同的条件下,加入 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的其他阳离子 (Ag^+ , Al^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , K^+ , Li^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) 后,探针 1 对其没有明显的荧光响应(图 3 a). 另外,在 365 nm 的紫外光照射下,探针 1 的溶液呈淡绿色,而加入 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ Pd^{2+} 后,溶液颜色变为橙黄色.

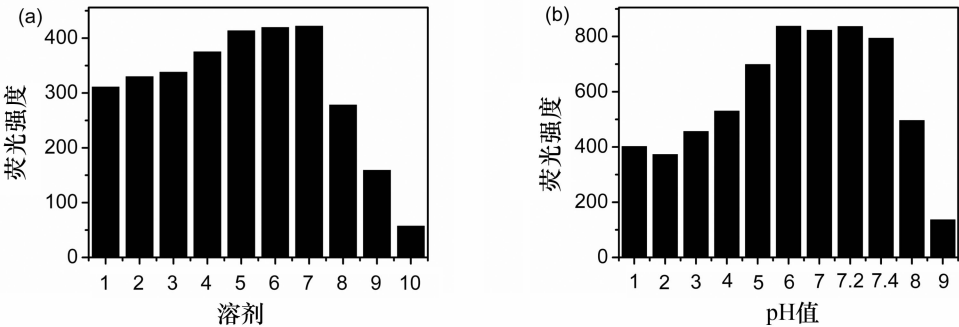


图 2 探针 1 ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 在 Pd^{2+} ($100\text{ }\mu\text{mol/L}$) 存在下,在不同测试溶剂中荧光发射强度(a)和在不同 pH 值条件下荧光发射强度(b):从左到右乙醇-水的体积比为 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5, 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8, 1 : 9, 0 : 10

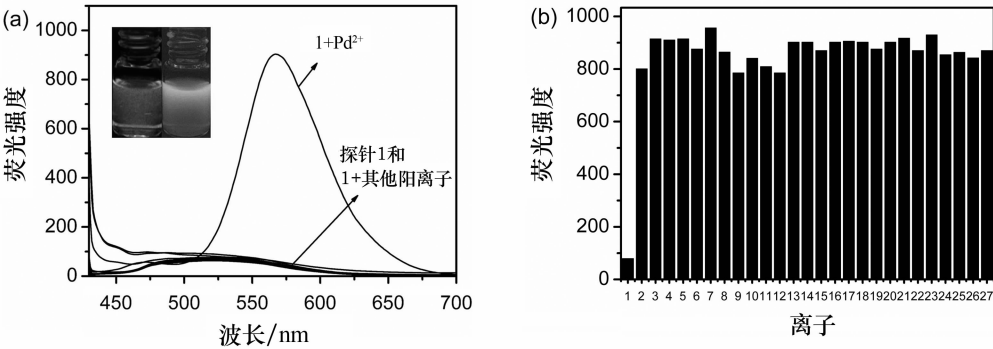


图 3 探针 1 ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 与 $100\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的 PdCl_2 或其他阴阳离子的选择性实验(a)和干扰性实验(b):其他阴阳离子从左到右依次为 Ag^+ , Al^{3+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , K^+ , Li^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , AcO^- , Br^- , Cl^- , CN^- , F^- , H_2PO_4^- , HSO_4^- , I^-

由于实际环境样品中往往多种离子共存,为了考察在其他各种离子存在的条件下,探针 **1** 是否可以实现对 Pd^{2+} 的检测而不受干扰,本文进行了干扰性实验(图 3 b). 结果表明,在 Pd^{2+} 和其他阳离子或者阴离子共存条件下,探针 **1** 的荧光发射强度几乎没有发生变化. 上述结果说明,探针 **1** 对 Pd^{2+} 具有很好的选择性,而且这种选择性可以被裸眼识别. 更重要的是在其他竞争离子存在的条件下,探针 **1** 对 Pd^{2+} 的检测不受干扰,这在实际应用中具有非常重要的意义.

不同价态钯化合物都具有相似的催化性能,为了研究探针 **1** 是否还可以用来检测其他钯化合物,本文利用探针 **1** 对 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{Pd}(\text{AcO})_2$, PdCl_2 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ 进行了检测. 如图 4 所示,探针 **1** 对不同价态的钯化合物都有荧光响应,其中对 $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ 和 PdCl_2 的荧光增强大于 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 的相对较差可能是因为参与催化的 0 价钯需要经历一个被氧化的过程. 这说明探针 **1** 可以应用于不同价态钯化合物的检测.

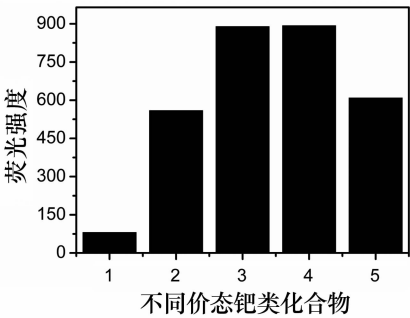


图 4 探针 **1** ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 与不同价态钯类化合物的荧光强度: 从左到右依次为 **1**, **1**+ $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, **1**+ $\text{Pd}(\text{AcO})_2$, **1**+ PdCl_2 , **1**+ $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$

2.3 探针 **1** 对钯离子的检测

由于 PdCl_2 的毒性是钯类化合物中最高的,本文考察了探针 **1** 对 PdCl_2 的荧光检测能力. 随着不同浓度的 PdCl_2 的加入,探针 **1** ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 的 HEPES (10 mmol/L , $\text{pH}=7.2$, 50% 乙醇) 缓冲溶液在 480 nm 处的荧光发射峰逐渐减弱,而在 566 nm 处的荧光发射峰大幅度增强,并且其荧光发射峰发生 86 nm 的红移. 当加入 2 当量的 PdCl_2 后, 566 nm 处的荧光发射峰强度保持不变,这说明探针 **1** 与 PdCl_2 的反应已经达到平衡(图 5 a).

将 566 nm 处的荧光发射强度对 PdCl_2 的浓度作图,发现荧光强度在 $0\sim15\text{ }\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内呈良好的线性关系. 通过拟合得到线性回归方程 $y=7.52x-196$ ($R^2=0.983$),计算得到检出限为 $0.23\text{ }\mu\text{mol/L}$ ^[13](图 5 b). 利用 Job 曲线法研究表明(图 6 a),探针 **1** 和 PdCl_2 的化学计量比是 $1:1$. 本文将探针 **1** ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 与 PdCl_2 ($100\text{ }\mu\text{mol/L}$) 的反应利用荧光光谱跟踪检测(图 6 b),并通过准一级动力学公式进行拟合得到准一级反应动力学常数为 $4.5\times10^{-3}\text{ s}^{-1}$ ($R^2=0.998$)^[14]. 以上结果说明探针 **1** 是一种可用于痕量钯快速检测分析的高灵敏度荧光探针.

2.4 反应机理研究

探针 **1**、**1** 与 PdCl_2 反应液和中间体 **2** 的质谱见图 7. 探针 **1** 对 Pd^{2+} 的高选择性应归于 Pd -触发酰氧键断裂反应的专一性^[15]. 可能的反应机理如图 8 所示. Pd^{2+} 与探针 **1** 的碳酸烯丙酯部位反应生成 π -烯丙基钯络合物 **3**, **3** 脱去烯丙基转化成碳酸单酯 **4**,最后脱去二氧化碳生成强荧光的羟基半花菁染料 **2**.

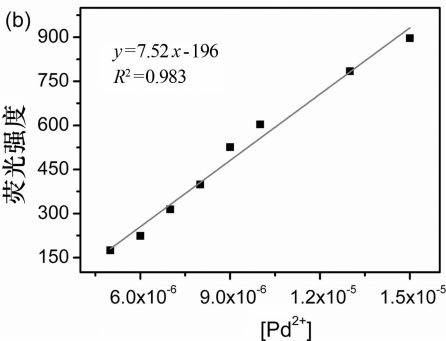
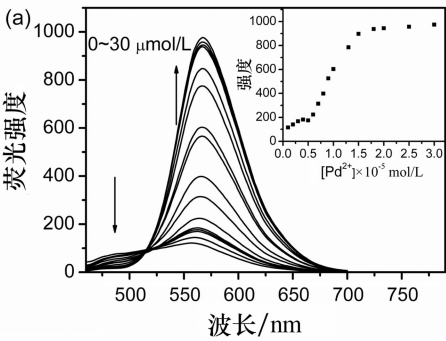
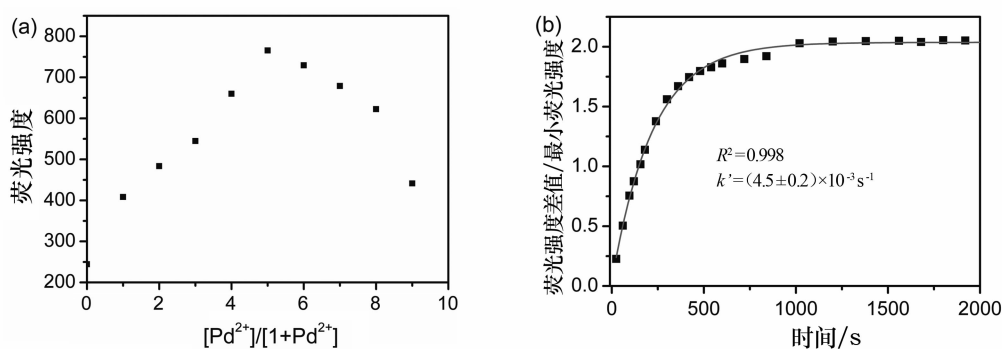
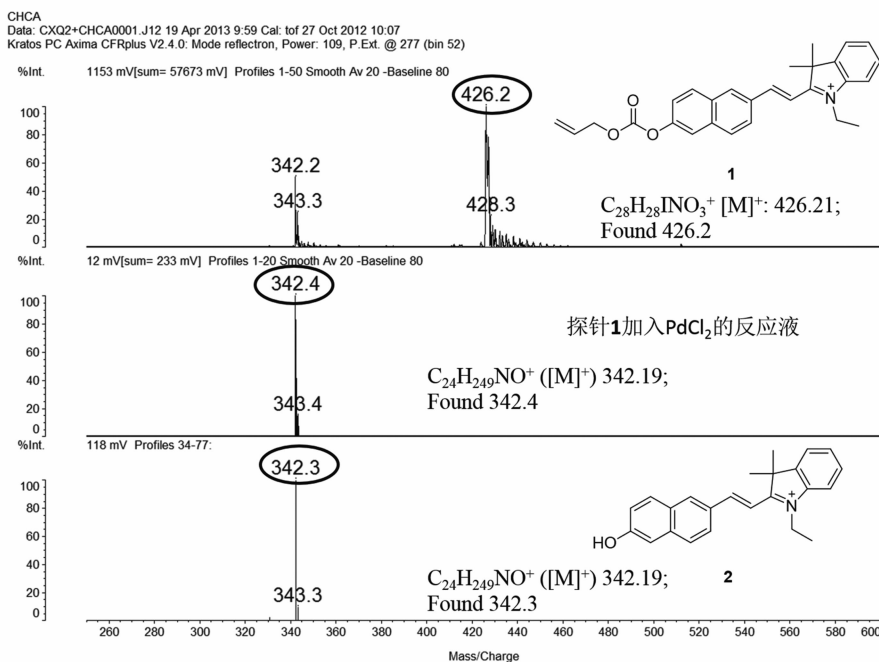
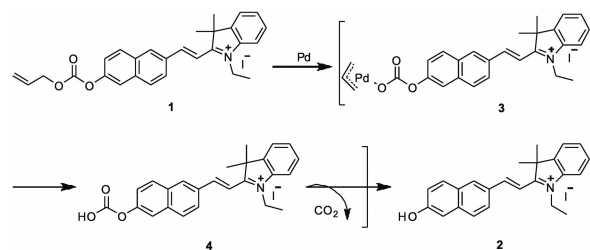


图 5 探针 **1** ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 与 PdCl_2 ($0\sim30\text{ }\mu\text{mol/L}$) 的荧光滴定光谱 (a) 和结合作用的线性拟合曲线 (b)

图 6 探针 1 (10 $\mu\text{mol/L}$) 与 Pd^{2+} 作用的 Job 曲线 (a) 和时间变化 (b)图 7 探针 1、1 与 $PdCl_2$ 和中间体 2 的质谱

为了进一步说明探针 1 与 Pd^{2+} 的反应机理, 将探针 1 分子与 $PdCl_2$ 的反应液进行质谱分析. 测试结果显示: 探针 1 ($C_{28}H_{28}INO_3^+ [M]^+$: 426.21, Found 426.2) 与 $PdCl_2$ 反应, 生成中间体 2 ($C_{24}H_{24}NO^+ [M]^+$: 342.19, Found 342.4), 由此证实了上述推测的机理.

图 8 探针 1 和 Pd^{2+} 的反应机理

3 结论

本文报道了一个以烯丙基碳酸酯和羟基半花菁染料为反应基团和荧光发光基团的新型钯比率荧光探针 1. 利用荧光发射光谱对探针 1 检测钯离子的选择性、灵敏度、响应时间进行研究, 并结合飞行质谱对其作用机理进行了研究. 研究表明, 探针 1 对钯离子具有高选择性, 并且不会受其他阴阳离子的干扰; 对于钯离子作用的前后, 荧光发射峰从 480 nm 红移至 566 nm, 并且荧光颜色由绿色变为橙色, 可被肉眼识别. 探针 1 可以实现对钯离子的快速检测, 响应时间仅需 10 min. 在乙醇-HEPES (体积比为 1 : 1, pH = 7.2) 缓冲溶液中, 对钯离子的检测极限为 $0.23 \mu\text{mol/L}$. 因此, 探针

1 可被应用于实际环境体系以及生物体系样品中定量与定性的钯离子检测。

参考文献:

- [1] CHEN X, Engle K M, WANG D H, et al. Palladium(II) catalyzed C-H activation/C-C cross-coupling reactions: versatility and practicality[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009,48(28):5094-5115.
- [2] 李敬亚,吴养洁,韩自省,等. 环钯化二茂铁亚胺卡宾络合物的合成表征及其对 Buchwald-Hartwig 胺化反应的催化性质[J]. *高等学校化学学报*, 2008,29(8):1555-1559.
- [3] Hodge V F, Stallard M O. Platinum and Palladium in roadside dust[J]. *Environ Sci Technol*, 1986,20(10):1058-1060.
- [4] Kielhorn J, Melber C, Keller D, et al. Palladium: a review of exposure and effects to human health[J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2002,205(6):417-432.
- [5] Locatelli C, Melucci D, Torsi I G. Determination of Platinum-group metals and lead in vegetable environmental biomonitors by voltammetric and spectroscopic techniques: critical comparison[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005,382:1567-1573.
- [6] Dimitrova B, Benkhedda K, Ivanova E, et al. Flow injection on-line preconcentration of Palladium by ion-pair adsorption in a knotted reactor coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry[J]. *J Anal At Spectrom*, 2004,19(10):1394-1396.
- [7] LI H L, FAN J L, PENG X J. Colourimetric and fluorescent probes for the optical detection of Palladium ions[J]. *Chem Soc Rev*, 2013,42:7943-7962.
- [8] Yushchenko D A, Shvadehak V V, Klymchenko A S. Modulation of excited-state intramolecular proton transfer by viscosity in protic media[J]. *J Phys Chem A*, 2007,111(42):10435-10438.
- [9] Tremblay M S, Halim M, Sames D. Cocktails Tb^{3+} and Eu^{3+} complexes: a general platform for the design of ratiometric optical probes[J]. *J Am Chem Soc*, 2007,129(24):7570-7577.
- [10] Zhu B C, Gao C C, Zhao Y Z, et al. A 4-hydroxynaphthalimide-derived ratiometric fluorescent chemodosimeter for imaging Palladium in living cells[J]. *Chem Commun*, 2011,47:8656-8658.
- [11] Jiang J, Jiang H, Liu W, et al. A colorimetric and ratiometric fluorescent probe for Palladium [J]. *Org Lett*, 2011,13(18):4922-4925.
- [12] Boto R E F, Reda M, Santos P F, et al. Synthesis and characterization of novel mono-and dicarboxy-alkyl thiocarboxy animes and their ester derivatives [J]. *Dye Pigments*, 2007,73:195-205.
- [13] Shortreed M, Kopelman R, Kuhn M, et al. Fluorescent fiber-optic calcium sensor for physiological measurements [J]. *Anal Chem*, 1996,68(8):1414-1418.
- [14] WU J S, LIU W M, ZHANG X Q, et al. Fluorescence turn on of coumarin derivatives by metal cations: a new signaling mechanism based on $C=N$ isomerization[J]. *Org Lett*, 2007,9(1):33-36.
- [15] Trost B M. New rules of selectivity: allylic alkylations catalyzed by Palladium[J]. *Acc Chem Res*, 1980,13(11):385-393.