

文章编号: 1000-7032(2022)03-0453-09

基于三苯胺的增强型 Fe³⁺ 荧光探针及性能

尚主业, 舒 丽, 王 月, 孟庆涛*, 贾宏敏, 张志强*

(辽宁科技大学 化学工程学院, 辽宁 鞍山 114051)

摘要: Fe³⁺ 在人的许多生理过程中扮演着重要的角色, 例如氧气运输、DNA 合成、髓磷脂合成、线粒体呼吸、神经递质合成和代谢等。然而, 过量的 Fe³⁺ 会诱导细胞产生 ·OH 从而引起细胞损伤, 并且还会诱导 β-地中海贫血、帕金森病、癫痫和阿尔茨海默病等疾病的发生。因此, 对 Fe³⁺ 的检测和监测具有非常重要的意义。本文设计并合成了一种以三苯胺为母体的增强型 Fe³⁺ 荧光探针 **BL**, 并将其应用于实际水样中 Fe³⁺ 的识别。结果表明, 探针 **BL** 对 Fe³⁺ 的识别具有较高的灵敏度, 其检测限低至 0.165 μmol · L⁻¹。同时, Fe³⁺ 的加入会导致探针溶液的荧光颜色由蓝绿色变为黄色, 能够达到“裸眼”识别的效果。通过高分辨率质谱证明了探针与 Fe³⁺ 为 1:1 配位。利用密度泛函理论计算了识别 Fe³⁺ 前后轨道能级和电能的变化并解释了其荧光光谱现象。

关键词: 三苯胺; 铁离子; 荧光增强型探针; 裸眼; 识别

中图分类号: O482.31

文献标识码: A

DOI: 10.37188/CJL.20210386

Synthesis and Performances of Triphenylamine Based Turn-on Fluorescent Probe for Fe³⁺ by An Enhancement Pattern

SHANG Zhu-ye, SHU Li, WANG Yue, MENG Qing-tao*, JIA Hong-min, ZHANG Zhi-qiang*

(School of Chemical Engineering, University of Science and Technology Liaoning, Anshan 114051, China)

* Corresponding Authors, E-mail: qtmeng@ustl.edu.cn; zzq@ustl.edu.cn

Abstract: Fe³⁺ plays an important role in many physiological processes, such as oxygen transport, DNA synthesis, myelin synthesis, mitochondrial respiration, neurotransmitter synthesis and metabolism. However, excessive Fe³⁺ can induce cells to produce a large amount of ·OH and result in cell damage, which can also cause a variety of diseases, such as β-thalassemia, Parkinson's disease, epilepsy and Alzheimer's disease. Therefore, it is of great significance to detect and monitor Fe³⁺. In this paper, a fluorescence enhanced Fe³⁺ probe **BL** based on triphenylamine is designed and synthesized, and it is also applied to the recognition of Fe³⁺ in real water samples. The results show that the probe **BL** has a high sensitivity for Fe³⁺ recognition, and the detection limit is as low as 0.165 μmol · L⁻¹. At the same time, upon the addition of Fe³⁺, an obvious change in the colour of the **BL** solution from turquoise to yellow is observed, allowing for colorimetric detection of Fe³⁺ by the “naked eye”. The 1:1 coordination mode between **BL** and Fe³⁺ is further proved by high resolution mass spectrometry. Density functional theory(DFT) is used to calculate the changes of energy level and energy of the orbital before and after coordination with Fe³⁺ and explain the phenomenon of its fluorescence spectrum.

收稿日期: 2021-12-08; 修订日期: 2021-12-23

基金项目: 辽宁省“百千万人才计划”; 辽宁省教育厅重点项目(LJKZ0277); 辽宁省教育厅科技计划(2019LNQN03, 2019LNCJ18) 资助项目

Supported by Liaoning “BaiQianWan Talents Program”; Scientific Research Fund General Project of Liaoning Province Department of Education (LJKZ0277); Technological Project of Liaoning Provincial Department of Education (2019LNQN03, 2019LNCJ18)

Key words: triphenylamine; iron ions; fluorescent enhanced probe; naked-eye; recognition

1 引 言

Fe^{3+} 是人体必需的微量元素^[1-2], 在人的许多生理过程中扮演着重要的角色, 例如氧气运输、DNA 合成、髓磷脂合成、线粒体呼吸、神经递质合成和代谢等^[3-5]。而 Fe^{3+} 失衡会严重影响人们的身体健康, 过量的 Fe^{3+} 会产生 $\cdot\text{OH}$ 引起细胞损伤^[6-8], 导致蛋白质、脂质、DNA 和碳水化合物的氧化和改性^[9], 还会诱导 β -地中海贫血、帕金森病、癫痫和阿尔茨海默病等疾病的发生^[10-14]。对于血液、生物组织等样品中微量铁离子的精确测定是研究其吸收代谢的基础, 同时 Fe^{3+} 也是反映人体健康状况的指标之一^[15-16], 因此, 对 Fe^{3+} 的检测和监测具有重要意义。

目前, 检测 Fe^{3+} 离子的方法多种多样, 包括电感耦合等离子体发射光谱法^[17-18]、高效液相色谱法^[19]、原子吸收光谱法^[20-21]、原子荧光光谱^[22]和电化学方法^[23-25]等, 但这些技术在检测中仍然面临高成本、操作繁琐、样品制备复杂等问题; 而荧光探针具有选择性好、灵敏度高、操作简单和原位检测等优点^[26-29]。由于 Fe^{3+} 具有顺磁性, 所以目前报道的 Fe^{3+} 荧光探针大部分是猝灭型荧光探针, 与荧光增强型探针相比, 荧光猝灭型探针有较大的背景信号干扰且检测限相对较高^[30], 对其性能研究具有一定的局限性。因此, 开发新型的 Fe^{3+} 荧光增强型探针是非常有必要的。

三苯胺的氮原子具有较强的供电子能力, 所以通过特定修饰的三苯胺具有独特的发光性能^[31-33]。因此, 开发出具有优越性能的三苯胺基荧光探针引起了越来越多科研工作者的关注。本文将 5-(4-(二苯胺)苯基)噻吩-2-甲醛和 4-氨基安替吡啉通过缩合反应制备出一种荧光增强型 Fe^{3+} 探针 **BL**。在 DMSO-HEPES 缓冲溶液中实现了对 Fe^{3+} 的特异性识别, 同时考察了不同金属离子及 pH 对 **BL** 识别 Fe^{3+} 离子的影响。利用高分辨率质谱 (HR-MS)、Job's plot 曲线和 Benesi-Hildebrand 曲线验证了 **BL** 对 Fe^{3+} 的识别机理。通过密度泛函理论 (DFT) 计算了识别 Fe^{3+} 前后轨道能级和电能的变化并解释了其荧光光谱现象。此外, 该探针也被应用于自来水和瓶装水中 Fe^{3+}

的定量检测。

2 实 验

2.1 主要仪器与试剂

主要仪器: AVANCE 500MHZ 型核磁共振波谱仪 (瑞士 BRUKER 公司); 6530 Q-TOFLC/MC 型液相质谱联用仪 (安捷伦科技公司); Lambda-900 型紫外分光光度计 (美国 P. E. 仪器公司); FS5 型爱丁堡荧光光谱仪 (英国爱丁堡公司); Nicolet iS-50 型红外光谱仪 (美国 Thermo 公司)。

试剂: 5-溴噻吩-2-甲醛、三苯胺-4-硼酸、四(三苯基膦)钨、4-氨基安替吡啉 (分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 二氯甲烷、二甲亚砜、金属硝酸盐 (Ca^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Co^{3+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 、 Li^{+} 、 Pb^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cr^{3+}) (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); KNO_3 (分析纯, 沈阳一化玻化学试剂); FeNO_3 (分析纯, 天津市光复科技发展有限公司)。所有试剂无需进一步纯化, 直接使用。

2.2 探针合成与表征

2.2.1 5-(4-(二苯胺)苯基)噻吩-2-甲醛合成

称取 5-溴噻吩-2-甲醛 0.191 g (1 mmol)、四(三苯基膦)钨 0.03 g (0.026 mmol)、10 mL 5 mol \cdot L⁻¹ 的 K_2CO_3 和 20 mL 四氢呋喃 (THF) 于 100 mL 烧瓶中, 加热搅拌 0.5 h。取三苯胺-4-硼酸 0.347 g (1.2 mmol) 溶于 10 mL THF, 加入上述溶液中。在 N_2 保护下, 90 $^\circ\text{C}$ 反应 8 h。冷却, 倒入水中, 用二氯甲烷萃取, 所得有机相用无水硫酸钠干燥, 旋干, 用二氯甲烷: 石油醚 ($v/v=5:1$, $R_f=0.32$) 柱层析分离, 得浅黄色固体, 收率为 70.2%。¹H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ (10^{-6}): 9.87 (s, 1H), 7.99 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J=7.9$ Hz, 4H), 7.14 (d, $J=7.4$ Hz, 2H), 7.11 ~ 7.07 (m, 4H), 6.96 (d, $J=8.7$ Hz, 2H)。¹³C NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz) δ (10^{-6}): 184.10, 153.38, 149.02, 146.89, 141.35, 139.86, 130.21, 127.86, 126.02, 125.43, 124.55, 124.42, 122.18。ESI-MS; m/z [$\text{M} + \text{H}^+$]⁺ = 356.1115, 计算值: 356.1104。

2.2.2 探针 **BL** 合成

称取 0.2031 g (1 mmol) 的 4-氨基安替吡啉和

0.355 1 g(1 mmol)的5-(4-(二苯胺)苯基)噻吩-2-甲醛,溶于20 mL无水乙醇中,滴加2 mL冰乙酸,回流10 h。反应结束后,抽滤,滤饼用10 mL冷无水乙醇洗涤几次后放入真空干燥箱干燥,得黄色固体 **BL**,产率为65%。¹H NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ(10⁻⁶):9.65(s,1H),7.63(d,*J*=8.6 Hz,2H),7.53(t,*J*=7.8 Hz,2H),7.46~7.41(m,2H),7.38(t,*J*=2.9 Hz,2H),7.37~7.31(m,5H),7.09(dd,*J*=14.2,

7.5 Hz,6H),6.98(d,*J*=8.7 Hz,2H),3.16(s,3H),2.40(s,3H)。¹³C NMR(101 MHz, DMSO-*d*₆) δ(10⁻⁶):160.12,151.86,148.78,147.80,147.19,146.19,143.22,134.99,132.47,130.14,129.62,127.40,127.17,125.09,124.97,124.10,123.95,123.09,35.84,10.25。ESI-MS:*m/z* [M+H]⁺=541.2066,计算值:541.2062。探针 **BL** 的合成路线如图1所示。

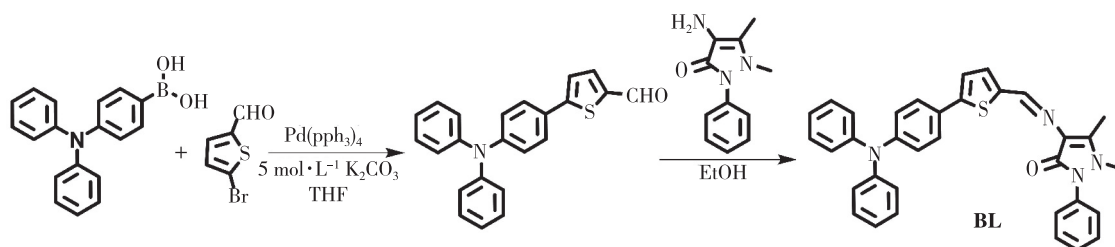


图1 探针 **BL** 的合成路线

Fig. 1 The synthetic route of probe **BL**

2.2.3 测试所需溶液配制

(1) **BL** 储备液配制

取0.0224 g的 **BL** 于100 mL容量瓶中,用DMSO定容,制得浓度为 $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓溶液(避光保存,备用)。测试时取出2.0 mL浓溶液于100 mL容量瓶中,用DMSO:HEPES=5:5的溶液稀释到 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(2) 金属离子溶液配制

称取一定量的各种金属离子硝酸盐于10 mL容量瓶中,用去离子水定容,配制成 $2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 金属离子溶液。

2.2.4 光谱测定

紫外-可见光谱(UV-Vis)和荧光光谱测试均在DMSO/HEPES(5:5, *v/v*, pH=7.4, 20 mmol·L⁻¹)条件下进行。紫外光谱测量范围为275~550 nm。荧光光谱的激发波长为415 nm,狭缝宽度均为2 nm,测试时间为2 min。

3 结果与讨论

3.1 探针 **BL** 识别 Fe³⁺ 紫外光谱响应

利用紫外光谱考查了探针 **BL** 对金属离子的选择性。由图2可看出,当加入Fe³⁺后,探针415 nm处的紫外吸收强度增强,形成鲜明对比的是,加入其他金属离子如Ca²⁺、Mg²⁺、Ni²⁺、Al³⁺、Cu²⁺、Hg²⁺、Zn²⁺、Ba²⁺、Co³⁺、K⁺、Na⁺、Ag⁺、Cr³⁺、Cd²⁺、Li⁺、Pb²⁺后,探针的吸收光谱没有变化。表明探针 **BL** 能够专一性识别Fe³⁺。

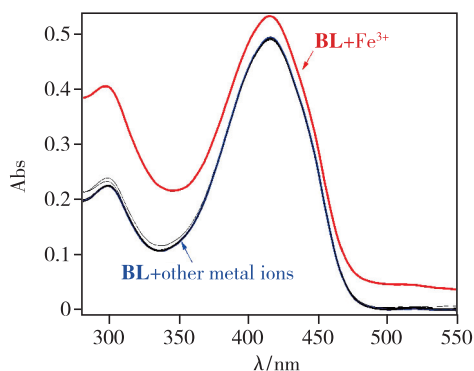


图2 向探针 **BL**($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液中加入各种阳离子($70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)(Ca²⁺、Fe³⁺、Mg²⁺、Ni²⁺、Al³⁺、Cu²⁺、Hg²⁺、Zn²⁺、Ba²⁺、Co³⁺、K⁺、Na⁺、Ag⁺、Cr³⁺、Cd²⁺、Li⁺、Pb²⁺)的紫外-可见吸收选择光谱

Fig. 2 UV-Vis absorption spectra of **BL**($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of various cations ($70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)(Ca²⁺、Fe³⁺、Mg²⁺、Ni²⁺、Al³⁺、Cu²⁺、Hg²⁺、Zn²⁺、Ba²⁺、Co³⁺、K⁺、Na⁺、Ag⁺、Cr³⁺、Cd²⁺、Li⁺、Pb²⁺)

在DMSO/HEPES(5:5, *v/v*, pH=7.4, 20 mmol·L⁻¹)缓冲溶液中,考查了不同浓度的Fe³⁺对探针 **BL** 紫外光谱的影响。如图3所示,随着Fe³⁺的加入,**BL**在415 nm处的紫外吸收峰逐渐增强,当加入Fe³⁺($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时,探针的紫外光谱不再变化。紫外滴定光谱表明探针 **BL** 对Fe³⁺有着良好的识别性能。

首先,利用荧光光谱考查了探针的光学稳定性,如图S10所示,探针在20 h内荧光强度无明显变化,

说明探针具有良好的光稳定性,这为其后续的应用奠定了良好的基础。接下来进一步考查了探针 **BL** 对各种金属离子 (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Co^{3+} , K^{+} , Na^{+} , Ag^{+} ,

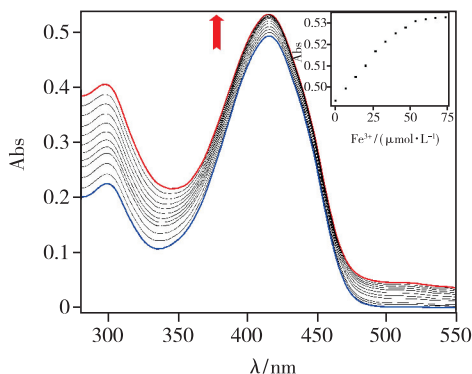


图 3 向探针 **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液中逐渐加入 Fe^{3+} ($0 \sim 75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的紫外-可见光谱(插图为探针溶液在 415 nm 处的吸光度随 Fe^{3+} 浓度变化的滴定曲线)

Fig. 3 UV-Vis absorption spectra of **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in the presence of increasing amount of Fe^{3+} ($0 \sim 75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) (Inset: absorption of **BL** at 415 nm as a function of Fe^{3+})

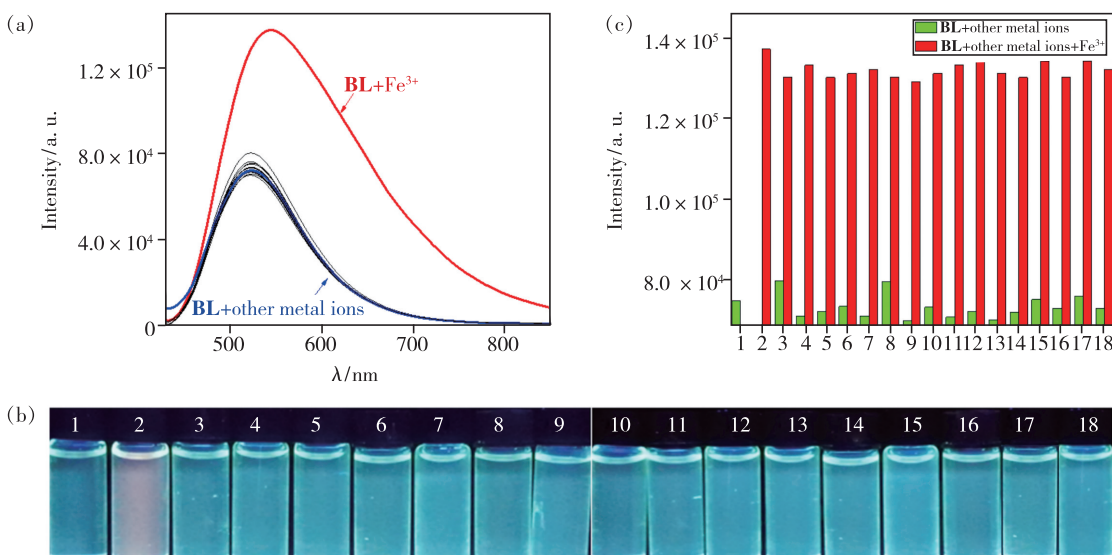


图 4 (a) 向探针 **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液中加入各种阳离子 ($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的荧光响应图; (b) 向探针 **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液中加入各种阳离子的溶液荧光显色图 ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$); (c) 向探针 **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液中加入 16 种其他金属离子 ($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 及加入 Fe^{3+} ($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的荧光竞争图 ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$) (1. Blank, 2. Fe^{3+} , 3. Ca^{2+} , 4. Cu^{2+} , 5. Mg^{2+} , 6. Ni^{2+} , 7. Al^{3+} , 8. Hg^{2+} , 9. Zn^{2+} , 10. Ba^{2+} , 11. Co^{3+} , 12. K^{+} , 13. Na^{+} , 14. Ag^{+} , 15. Cr^{3+} , 16. Cd^{2+} , 17. Li^{+} , 18. Pb^{2+})。

Fig. 4 (a) Fluorescence responses of **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in the presence of various cations ($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). (b) Fluorescence color responses of **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of various cations ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$). (c) Fluorescence responses of **BL** ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) to 16 kinds of other metal ions ($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and Fe^{3+} ($65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$) (1. Blank, 2. Fe^{3+} , 3. Ca^{2+} , 4. Cu^{2+} , 5. Mg^{2+} , 6. Ni^{2+} , 7. Al^{3+} , 8. Hg^{2+} , 9. Zn^{2+} , 10. Ba^{2+} , 11. Co^{3+} , 12. K^{+} , 13. Na^{+} , 14. Ag^{+} , 15. Cr^{3+} , 16. Cd^{2+} , 17. Li^{+} , 18. Pb^{2+}).

Cr^{3+} , Cd^{2+} , Li^{+} , Pb^{2+}) 的荧光识别性能。如图 4(a) 所示, 探针 **BL** 本身在 538 nm 处表现出较弱的荧光发射, 加入 Fe^{3+} 后探针的荧光明显增强且发射波长红移到 550 nm , 溶液的荧光颜色由蓝绿色变为黄色(图 4(b))。在 HEPES 缓冲液中, 我们探究了 **BL** 对 Fe^{3+} 的响应时间。如图 S11 所示, 向探针 **BL** 中加入不同量的 Fe^{3+} ($0, 25, 50, 75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 后, 荧光强度迅速上升并且在 100 s 左右达到最高, 表明探针 **BL** 能在 100 s 内完成对 Fe^{3+} 的检测。识别机理为 Fe^{3+} 的加入使探针的光诱导电子转移(PET)过程受到抑制从而使体系的荧光得以恢复。而加入其他金属离子对 **BL** 的荧光光谱则没有任何影响, 实验结果表明该探针对于 Fe^{3+} 的识别具有专一性。

性能优良的探针若要能够实际应用, 必须具备在干扰离子共存的环境下仍具有专一识别 Fe^{3+} 的能力。因此, 本文对探针 **BL** 识别 Fe^{3+} 的抗干扰性进行了测试。如图 4(c) 所示, 在探针溶液中加入各种阳离子(3 ~ 18 号绿色柱)后, 与探

针原溶液(1号绿色柱)相比,强度没有明显变化。而在含有干扰离子的探针溶液中继续加入 Fe³⁺ 后,其荧光强度均明显增强(3~18号红色柱),且与在探针溶液中仅加入 Fe³⁺ 的荧光强度(2号红色柱)基本一致。这一结果表明探针 **BL** 对 Fe³⁺ 的检测具有很强的抗干扰性。

在 DMSO/HEPES (5:5, v/v, pH = 7.4, 20 mmol · L⁻¹) 的缓冲条件下,进行了 Fe³⁺ 的荧光滴定实验。结果如图 5 所示,随着 Fe³⁺ 浓度的增大,探针 **BL** 的荧光强度逐渐增强且波长发生红移。从右上插图可以看出,当加入 65 μmol · L⁻¹ Fe³⁺ 时探针的荧光强度几乎不再发生变化,达到滴定终点。进一步测定了 2 μmol · L⁻¹ 下向探针 **BL** 的溶液中加入不同浓度 Fe³⁺ (0~8 μmol · L⁻¹) 后的荧光强度变化。如图 S12 所示,探针 **BL** 在 550 nm 处的荧光强度与 Fe³⁺ 的浓度变化具有良好的线性关系 ($R^2 = 0.99256$),通过计算得出探针 **BL** 识别 Fe³⁺ 的最低检测限为 0.165 μmol · L⁻¹。

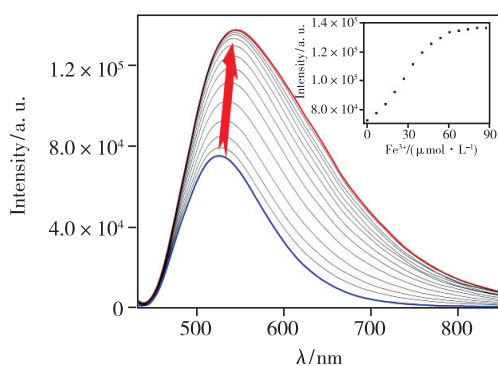


图5 向探针 **BL** (10 μmol · L⁻¹) 溶液中逐渐加入 Fe³⁺ (0~90 μmol · L⁻¹) 的荧光滴定图(插图为探针在 550 nm 处的荧光强度随 Fe³⁺ 浓度变化的滴定曲线) ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$)

Fig. 5 Fluorescence titration of probe **BL** (10 μmol · L⁻¹) solution with gradual addition of Fe³⁺ (0 - 90 μmol · L⁻¹) (Inset: fluorescence emission of **BL** at 550 nm as a function of Fe³⁺ concentration) ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$)

利用 Job's plot 曲线测定了探针 **BL** 与 Fe³⁺ 的配位比。由图 S13 可知,曲线最高点对应的横坐标为 0.5,说明探针 **BL** 与 Fe³⁺ 按 1:1 进行配位。采用 Benesi-Hildebrand 线性方程,按照 1:1 配位模式进行线性拟合。如图 6 所示,在 550 nm 处测得的荧光强度 $1/(F_0 - F)$ 与 $1/[\text{Fe}^{3+}]$ 呈现良好的线性关系 ($R^2 = 0.98767$),这也证实了探

针 **BL** 和 Fe³⁺ 之间的 1:1 化学计量关系。通过拟合方程可以计算出探针 **BL** 识别 Fe³⁺ 的络合常数为 $1.603 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

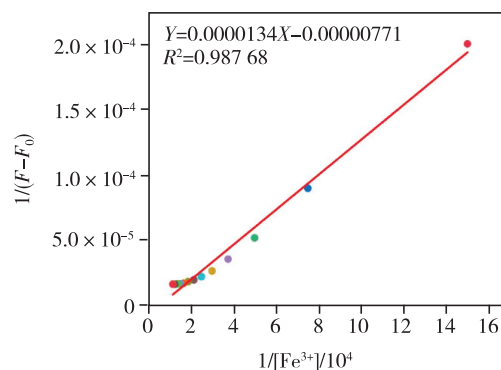


图6 探针 **BL** (10 μmol · L⁻¹) 与 Fe³⁺ 按照 1:1 配位模式的 Benesi-Hildebrand 曲线图 ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$)

Fig. 6 Benesi-Hildebrand plot of **BL** (10 μmol · L⁻¹) based on 1:1 binding stoichiometry with Fe³⁺ ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$)

为了探究探针 **BL** 是否能够在不同 pH 条件下识别 Fe³⁺,为此进行了探针的 pH 依赖性实验。在 DMSO/HEPES (5:5, v/v, 20 mmol · L⁻¹) 的条件下,在 pH = 4~11 范围内测试了探针以及加入 65 μmol · L⁻¹ Fe³⁺ 后的荧光发射强度。如图 7 所示,探针 **BL** 的荧光强度并没有随着 pH 值的改变而发生明显的变化,加入 Fe³⁺ 后探针的荧光强度大幅增强,并且在酸、碱环境下均可以实现对 Fe³⁺ 的有效识别。实验结果表明探针 **BL** 具有在广泛 pH 环境下的应用潜质。

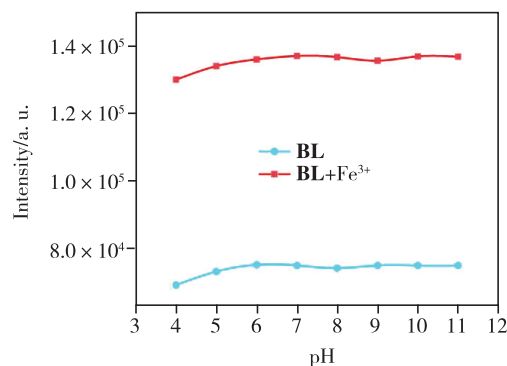


图7 探针 **BL** (10 μmol · L⁻¹) 溶液以及识别 Fe³⁺ 后的溶液在不同 pH 值下的荧光强度曲线 ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$)

Fig. 7 Effects of pH on the fluorescence intensities of **BL** (10 μmol · L⁻¹) in the absence and presence of Fe³⁺ (75 μmol · L⁻¹) ($\lambda_{\text{ex}} = 415 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$)

3.2 探针 BL 识别 Fe^{3+} 机理验证

探针 **BL** 识别 Fe^{3+} 时, Fe^{3+} 与噻吩上的 S 原子、席夫碱上的 N 原子和安替吡啉羰基上的 O 原子发生配位, 生成含有杂原子的两个五元环的稳定配合物。通过 Job's plot 曲线和 Benesi-Hildebrand 曲线已经测试出探针 **BL** 与 Fe^{3+} 配位比为 1:1, 为了更加直观地体现出 **BL** 与 Fe^{3+} 的配位

方式, 我们利用 HR-MS 进一步探究了 **BL** 与 Fe^{3+} 所生成的产物。探针本身 $[\text{BL} + \text{H}^+]^+$ 在 $m/z = 541.2066$ 处显示出分子离子峰(图 S5)。向探针 **BL** 溶液中加入 Fe^{3+} 后, 在 $m/z = 666.0899$ 处观察到有新的离子峰生成(图 S9), 推测该峰为 $[\text{BL} + \text{Fe}^{3+} + 2\text{Cl}^-]^+$ 的分子量。由此也验证了探针 **BL** 与 Fe^{3+} 为 1:1 络合(图 8)。

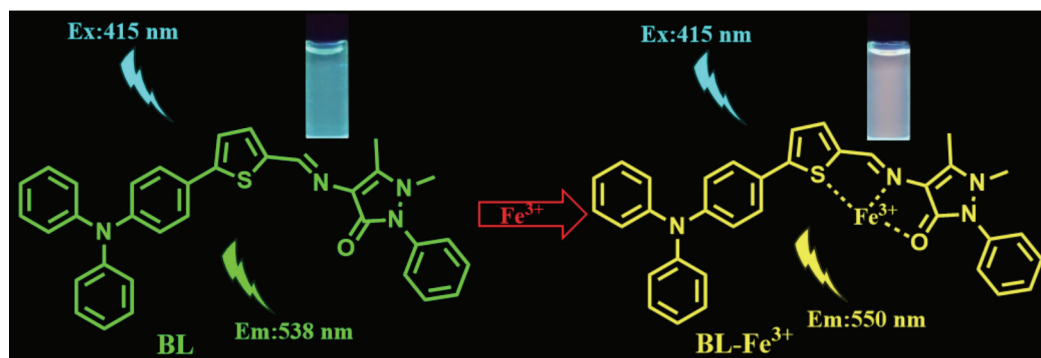


图 8 探针 **BL** 对 Fe^{3+} 的响应机理图

Fig. 8 The response mechanism of probe **BL** of Fe^{3+}

3.3 理论计算

为了更深入地理解 **BL** 对 Fe^{3+} 识别所产生的光谱变化, 通过密度泛函理论计算了探针 **BL** 识别 Fe^{3+} 前后最优结构的能隙变化。如图 9 所

示, 在与 Fe^{3+} 识别之前, **BL** 的 HOMO 只有在安替吡啉的苯环上没有分布, 在其余各部分均有分布; 而 **BL** 的 LUMO 分布在噻吩、与噻吩相连的苯环、席夫碱和吡唑环部分。 **BL** 的 HOMO 和 LUMO 轨道

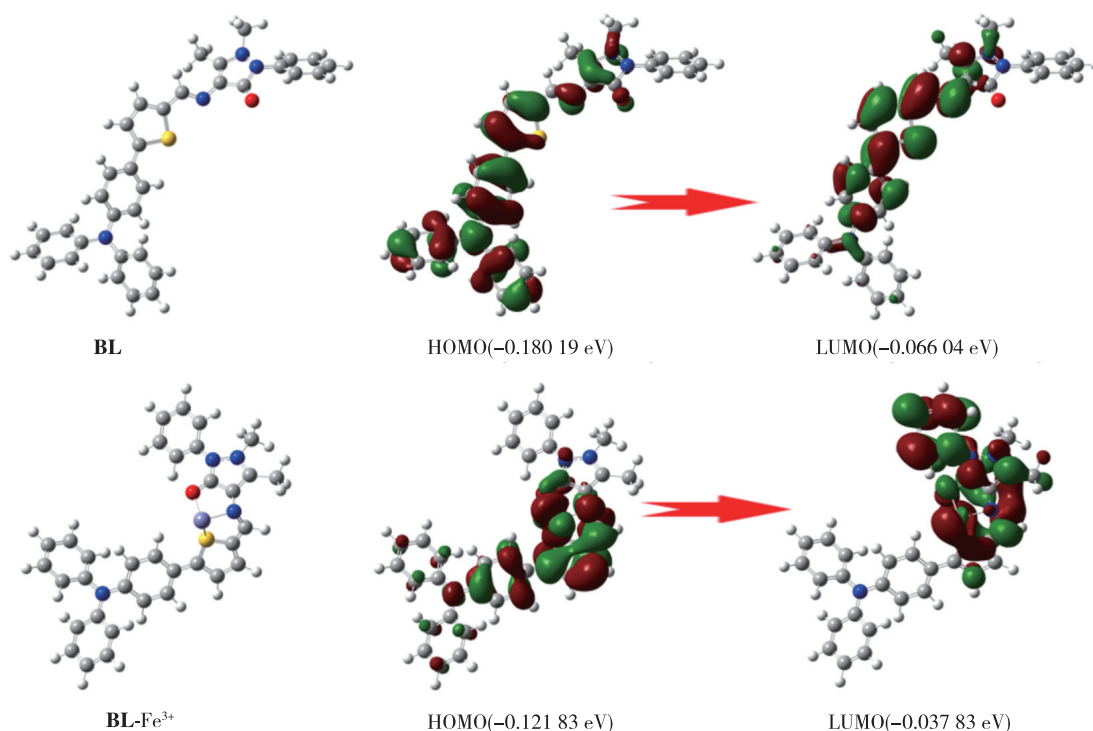


图 9 探针 **BL** 与 Fe^{3+} 络合前后优化的分子几何结构、HOMO 和 LUMO 轨道分布及相应的电能。

Fig. 9 The molecular geometry, HOMO and LUMO orbital distribution and the corresponding electrical energy were optimized before and after the probe **BL** complexed with Fe^{3+} .

能级差为 0.114 15 eV。在与 Fe³⁺ 识别之后, **BL**-Fe³⁺ 的 HOMO 主要分布在噻吩、席夫碱和 Fe³⁺ 上,在三苯胺和安替吡啉上的分布较少;而 **BL**-Fe³⁺ 的 LUMO 主要分布在噻吩、席夫碱、Fe³⁺ 和安替吡啉上,在三苯胺部分没有分布。此时 HOMO 和 LUMO 轨道能级差为 0.084 00 eV。由于 **BL**-Fe³⁺ 的轨道能级差小于 **BL** 的轨道能级差,所以发射光谱发生红移,这与实验结果相吻合。

3.5 实际水样中 Fe³⁺ 的检测

为了验证探针 **BL** 潜在应用前景,我们对自来水和在当地超市购买的瓶装水中不同浓度的 Fe³⁺

表 1 水样中 Fe³⁺ 的检测结果

Tab. 1 Determination of Fe³⁺ in different water samples

Samples	Added/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Found/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Recovery/ %
Tap water	10.0	9.89	98.9
	50.0	49.01	98.0
	100.0	103.51	103.5
Bottled water	10.0	10.21	102.1
	50.0	49.68	99.4
	100.0	98.28	98.3

(10, 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 进行了测定。所有测定水样中 Fe³⁺ 的回收率均在 98.3% ~ 103.5% 之间。结果表明,探针 **BL** 能够应用于实际水样中 Fe³⁺ 的定量检测,具有重要的应用价值。

4 结 论

本文设计并合成了一种以三苯胺为母体的 Fe³⁺ 荧光增强型探针 **BL**,该探针对 Fe³⁺ 的识别具有较高的灵敏度、较广泛的 pH 适用范围、良好的选择性以及较强的抗干扰能力,其检测限低至 0.165 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时,加入 Fe³⁺ 后溶液的荧光颜色发生显著变化,能够达到“裸眼”识别的效果。通过高分辨率质谱也进一步证明了探针与 Fe³⁺ 为 1:1 配位。利用密度泛函理论(DFT)计算了识别 Fe³⁺ 前后轨道能级和电能的变化并解释了其荧光光谱发生红移的现象。此外,该探针也成功应用于实际水样中 Fe³⁺ 的定量检测。

本文补充文件、专家审稿意见及作者回复信下载地址:<http://cjl.lightpublishing.cn/thesisDetails#10.37188/CJL.20210386>。

参 考 文 献:

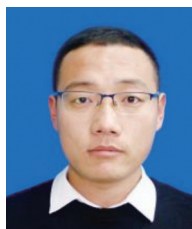
- [1] PAN C Q, WANG K, JI S M, *et al.* Schiff base derived Fe³⁺-selective fluorescence turn-off chemosensors based on triphenylamine and indole: synthesis, properties and application in living cells [J]. *RSC Adv.*, 2017, 7(57):36007-36014.
- [2] 曾竟, 刘瑞姣, 陈佳敏. 在双波长下识别 Fe³⁺ 的一种新型可视化荧光探针的合成及性能 [J]. *发光学报*, 2019, 40(4):542-551.
ZENG J, LIU R J, CHEN J M. Synthesis and properties of a novel colorimetric fluorescent probe for Fe³⁺ at dual emission wavelengths [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2019, 40(4):542-551. (in Chinese)
- [3] HE B, PUN A B, ZHEREBETSKYY D, *et al.* New form of an old natural dye: bay-annulated indigo (BAI) as an excellent electron accepting unit for high performance organic semiconductors [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136(42):15093-15101.
- [4] SUMNER J P, KOPELMAN R. Alexa fluor 488 as an iron sensing molecule and its application in PEBBLE nanosensors [J]. *Analyst*, 2005, 130(4):528-533.
- [5] 张文字, 常青, 周雨锋, 等. 一步合成硫、氮共掺杂的碳量子点及其在 Fe³⁺ 检测中的应用 [J]. *发光学报*, 2016, 37(4):410-415.
ZHANG W Y, CHANG Q, ZHOU Y F, *et al.* One-step synthesis of sulfur-and nitrogen-co-doped carbon quantum dots for Fe(III) detection [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2016, 37(4):410-415. (in Chinese)
- [6] ZHAO Y Q, DUAN J H, YU L, *et al.* Metabolic iron detection through divalent metal transporter 1 and ferroportin mediated cocktail fluorogenic probes [J]. *Chem. Commun.*, 2021, 57(64):7902-7905.
- [7] TUMAY S O, IRANI-NEZHAD M H, KHATAEE A. Multi-anthracene containing fluorescent probe for spectrofluorimetric iron determination in environmental water samples [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2021, 248:119250-1-9.
- [8] LONG L L, WANG N, HAN Y Y. A coumarin-based fluorescent probe for monitoring labile ferrous iron in living system [J]. *Analyst*, 2018, 143(11):2555-2562.

- [9] WARD R J,ZUCCA F A,DUYN J H,*et al.* The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders [J]. *Lancet Neurol.* , 2014,13(10):1045-1060.
- [10] WANG W,WU M,LIU H M,*et al.* A novel on-off-on fluorescent chemosensor for relay detection of Fe^{3+} and PPI in aqueous solution and living cells [J]. *Tetrahedron Lett.* , 2019,60(25):1631-1635.
- [11] HUANG L,HOU F P,CHENG J,*et al.* Selective off-on fluorescent chemosensor for detection of Fe^{3+} ions in aqueous media [J]. *Org. Biomol. Chem.* , 2012,10(48):9634-9638.
- [12] GAO Y,MA S W,YA X Y,*et al.* A novel isatin-based fluorescent chemosensor:synthesis and recognition behaviour towards $\text{Fe}(\text{III})$ and PPI in aqueous solution and living cells [J]. *Tetrahedron Lett.* , 2019,61(5):151452-1-5.
- [13] LI Z X,ZHANG L F,LI X Y,*et al.* A fluorescent color/intensity changed chemosensor for Fe^{3+} by photo-induced electron transfer(PET) inhibition of fluoranthene derivative [J]. *Dyes Pigm.* , 2012,94(1):60-65.
- [14] 刘静,李东伟,武小强,等. 羰基亚胺铁离子荧光探针的合成及识别性能 [J]. 发光学报, 2017,38(2):226-231.
LIU J,LI D W,WU X Q,*et al.* Synthesis and recognition performance of naphthalene imide-iron ion fluorescent probe [J]. *Chin. J. Lumin.* , 2017,38(2):226-231. (in Chinese)
- [15] GHAEDI M,SHOKROLLAHI A,MEHRNOOSH R,*et al.* Combination of cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of trace iron in environmental and biological samples [J]. *Cent. Eur. J. Chem.* , 2008,6(3):488-496.
- [16] BAE S,TAE J. Rhodamine-hydroxamate-based fluorescent chemosensor for Fe^{III} [J]. *Tetrahedron Lett.* , 2007,48(31):5389-5392.
- [17] EBRAHIMI-NAJAFABADIH,PASDARAN A,BEZENJANI R R,*et al.* Determination of toxic heavy metals in rice samples using ultrasound assisted emulsification microextraction combined with inductively coupled plasma optical emission spectroscopy [J]. *Food Chem.* , 2019,289:26-32.
- [18] LIN Y T,HOANG H,HSIEHS I,*et al.* Manganous ion supplementation accelerates wild type development, enhances stress resistance, and rescues the life span of a short-lived *Caenorhabditis elegans* mutant [J]. *Free Radical Biol. Med.* , 2006,40(7):1185-1193.
- [19] REKHI H,RANI S,SHARMA N,*et al.* A review on recent applications of high-performance liquid chromatography in metal determination and speciation analysis [J]. *Crit. Rev. Anal. Chem.* , 2017,47:524-537.
- [20] SEIDI S,ALAVI L. Novel and rapid deep eutectic solvent(DES) homogeneous liquid-liquid microextraction(HLLME) with flame atomic absorption spectrometry(FAAS) detection for the determination of copper in vegetables [J]. *Anal. Lett.* , 2019,52(13):2092-2106.
- [21] HIRAYAMA T,TSUBOI H,NIWA M,*et al.* A universal fluorogenic switch for $\text{Fe}(\text{II})$ ion based on N-oxide chemistry permits the visualization of intracellular redox equilibrium shift towards labile iron in hypoxic tumor cells [J]. *Chem. Sci.* , 2017,8(7):4858-4866.
- [22] MALIK L A,BASHIR A,QUIREASHI A,*et al.* Detection and removal of heavy metal ions;a review [J]. *Environ. Chem. Lett.* , 2019,17(4):1495-1521.
- [23] LU Y Y,LIANG X Q,NIYUNGEKO C,*et al.* A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry [J]. *Talanta* , 2018,178:324-338.
- [24] BANSOD B K,KUMAR T,THAKUR R,*et al.* A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms [J]. *Biosens. Bioelectron.* , 2017,94:443-455.
- [25] ZHANG X M,GOU Z M,ZUO Y J,*et al.* A novel polythioether-based rhodamine B fluorescent probe *via* successive click reaction and its application in iron ion detection and cell imaging [J]. *Spectrochim. Acta A* , 2020,228:117679-1-7.
- [26] GAO H F,QI H T,PENG Y J,*et al.* Rapid "turn-on" photoluminescence detection of bisulfite in wines and living cells with a formyl bearing bis-cyclometalated $\text{Ir}(\text{III})$ complex [J]. *Analyst* , 2018,143(15):3670-3676.
- [27] LI K,LI LL,ZHOU Q,*et al.* Reaction-based fluorescent probes for SO_2 derivatives and their biological applications [J]. *Coord. Chem. Rev.* , 2019,388:310-333.
- [28] ZHOU F,FENG H,LI H B,*et al.* Red-emission probe for ratiometric fluorescent detection of bisulfite and its application in live animals and food samples [J]. *ACS Omega* , 2020,5(10):5452-5459.
- [29] 林静,邵康,王锴,等. 近红外长余辉纳米探针 $\text{ZnGa}_2\text{O}_4:\text{Cr}^{3+},\text{Sn}^{4+}$ 的制备及 Fe^{3+} 含量的时间分辨检测 [J]. 发光

学报, 2020, 41(6): 734-743.

LIN J, SHAO K, WANG K, *et al.* Synthesis of near-infrared persistent luminescent nanoprobe ZnGa₂O₄: Cr³⁺, Sn⁴⁺ and detection of Fe³⁺ with time-resolved spectra technique [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2020, 41(6): 734-743. (in Chinese)

- [30] WANG F Y, YU S J, XU Z A, *et al.* Acid-promoted D-A-D type far-red fluorescent probe with high photostability for lysosomal nitric oxide imaging [J]. *Anal. Chem.*, 2018, 90(13): 7953-7962.
- [31] DUAN J D, PAN H H, WEI C T, *et al.* Synthesis and physical properties of triphenylamine-functionalized twistacenes: blue-emitting fluorophores [J]. *RSC Adv.*, 2017, 7(17): 10570-10574.
- [32] HE K Q, SU N, YU J T, *et al.* Dinuclear cyclometalated iridium(III) complex containing functionalized triphenylamine core: synthesis, photophysics and application in the single-emissive-layer WOLEDs [J]. *Tetrahedron*, 2016, 72(45): 7164-7169.
- [33] KEAWIN T, PRACHUMRAK N, NAMUANGRUK S, *et al.* Efficient bifunctional materials based on pyrene- and triphenylamine-functionalized dendrimers for electroluminescent devices [J]. *RSC Adv.*, 2015, 5(90): 73481-73489.



尚主业(1996-),男,辽宁鞍山人,博士研究生,2019年于辽宁科技大学获得学士学位,主要从事分子识别与生物成像方面的应用基础研究。

E-mail: shangzhuye@163.com



张志强(1964-),男,吉林通榆人,博士,教授,博士生导师,2009年于大连理工大学获得博士学位,主要从事精细化学品的研制及应用、功能性有机化合物的设计、合成及应用、荧光分子探针的设计、合成及应用、过渡金属催化反应等的研究。

E-mail: zzq@ustl.edu.cn



孟庆涛(1981-),男,山东曲阜人,博士,教授,博士生导师,2011年于大连理工大学获得博士学位,主要从事生物及医用新材料(包括生物传感与生物成像材料、医用诊断与治疗材料和新型有机荧光染料等)方面的应用基础研究。

E-mail: qtmeng@ustl.edu.cn