文章编号: 1007 - 4252(2023) 04 - 0004 - 274 DOI: 10.20027/j.gncq.2023.0036

三联吡啶配位荧光结构及高效有机磷毒剂检测

张五昆[1,2],徐 炜[2],付艳艳[2],程建功[2*]

(1.上海师范大学化学与材料科学学院,上海 200234; 2. 中国科学院上海微系统与信息技术研究所,上海 200050)

摘要: 有机磷神经毒剂可对人体健康和生命造成巨大危害,其检测技术是近年来的研究热点。本工作开发了基于三联吡啶的席夫碱改性结构 TBH,以及性能更好的有机金属配合物 TBH-Zn 传感探针,并将其用于对沙林模拟物氯磷酸二乙脂(DCP) 的液相检测中,此探针表现出极低的检测限,可低至 26.6 nM,并对系列有机磷干扰物具备良好的选择性。相关表征和理论计算显示,金属配位结构与席夫碱结构协同调制,构造得到更高性能的“turn-on”敏感体系,荧光增强性能为 TBH 探针的约 2.5 倍。该配位型荧光探针设计策略,未来在高性能传感体系的设计中将发挥重要价值。

关键词: 有机磷神经毒剂; 荧光传感器; 有机金属配合物; 液相检测。

中图分类号: TN40 **文献标识码:** A

Triplet pyridine coordination fluorescence structure for efficient organophosphate toxic agent Detection

Zhang Wu-kun[1,2],Xu Wei [2],Fu Yan-yan[2],Cheng Jian-gong [2*]

(1.College of Chemistry and Materials Science,Shanghai Normal University,Shanghai 200234,China; 2. Shanghai Institute of Microsystem and Information Technology,Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China)

Abstract: Organophosphate nerve agents can cause great harm to human health and life, and their detection technology is a research hotspot in recent years. In this work, the Schiff base modified structure TBH and TBH-Zn sensing probes were developed and used for the liquid phase detection of sarin analog diethyl chlorphosphate (DCP) , which showed very low detection limit, as low as 26.6 nM, and showed good selectivity for series organophosphorus interference. Correlation characterization and theoretical calculations show that the metal coordination structure is jointly modulated with the Schiff base structure to construct a higher performance "turn-on" sensitive system. The fluorescence enhancement performance was about 2.5 times that of the TBH probe. The coordination-type fluorescent probe design strategy will be of great value in the design of high-performance sensing system in the future.

收稿日期: 2023-08-18; **修订日期:** 2023-08-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.61831021、61771460、61901456 和 51641307) ; 上海市科学技术委员会(批准号: 19YF1455700 和 19142203500) 。

通信作者: 程建功(1968-) ,男,博士,研究员,主要研究方向为敏感材料及其传感器应用 (E-mail: jgcheng@ mail.sim.ac.cn) .

Key words: Organophosphate nerve agent; Fluorescent sensor; Organic metal complex; Liquid phase detection

0 引言

有机磷神经毒剂通常是一类油状无色液体，易挥发，能够通过口、鼻、皮肤等进入人体，进入人体后会不可逆的破坏人体的神经传导过程，吸入少量的有机磷神经毒剂即可使人中毒甚至死亡，有机磷神经毒剂通常带有磷酸酯类结构，能够分为 G 系列和 V 系列，其中沙林毒剂(GB) 作为其中的代表性神经毒剂多次用于战争以及恐怖袭击等活动中，严重危害了人体生命健康以及社会公共安全，多国已禁止化学武器的使用[1-3]。1995 年，日本邪教组织在东京发起了一次恐怖袭击，使用的就是沙林毒剂，事故造成 13 人死亡，并有数千人受到不同程度的伤害; 叙利亚内战中也多次显示出使用了化学武器。由于有机磷神经毒剂极大的危害性以及受到严格的管制，在实验研究中通常使用毒性远低于有机磷神经毒剂，却能够与有机磷神经毒剂有相似性质的模拟物进行检测，如沙林模拟物氯磷酸二乙酯(DCP) [4-5]。

针对有机磷神经毒剂的检测方法通常有传统的质谱法、生物酶传感器、离子迁移谱等，然而这些方法常用于实验室检测，具有检测时间长、检测过程复杂需要专业分析人员以及仪器庞大无法移动等特点，无法满足现场实时快速检测的需要，基于有机磷神经毒剂的易挥发性，气相检测显得尤为重要[6-8]。荧光化学传感器以荧光传感材料为核心，通过特异性反应将识别信号转化为荧光的变化进行输出，具有灵敏度高、操作简单、仪器可小型化等特点，逐渐得到了越来越多研究人员的关注。

有机磷神经毒剂荧光传感材料的设计思路往往是开发一类亲电性试剂，因为有机磷毒剂卤代磷酸酯结构中的卤素易离去，暴露出具有正电性的磷原子，或是水解产生的质子。因此往往选择电负性大的氮和氧作为核心作用位点，通过不同的传感机制，例如 FRET、PET、ICT 等机制，进行与 DCP 等被检测物的传感。常见的传感材料可大致分为以氮原子为作用位点的探针分子和以氧原子为作用位点的探针分子[9-12]。

具有多个 sp2 杂化的氮原子的三联吡啶结构是一类良好的荧光探针结构，能够表现出良好的光稳定性，同时吡啶也是一类良好的给电子基团，实测 DCP 检测限低至 65ppt[13]。然而，该体系属于荧光“turn-off”模式，探针在传感之前需要持续处于强发光状态，容易受到重金属离子、氧化还原物质干扰导致荧光猝灭，制约其实际应用。

2018 年，本课题组通过设计并合成了一类席夫碱类有机荧光探针分子[14]，席夫碱主要是指含亚胺结构(-RC=N-) 的一类有机化合物，通常由胺和羰基经过缩合反应形成碳氮双键，反应过程简单。此研究以席夫碱骨架为核心，引入叔胺基团，席夫碱结构可以有效调控分子内电荷转移过程，优化谭政的生色作用，活化芳环体系的二甲胺识别基团，协同作用使得合成的荧光传感材料能够以荧光“turn-on”的形式了实时检测 DCP 气体与溶液，具有良好的选择性、低响应时间和高灵敏度等特点，最低的检测限可达 0.14ppb。该工作提供了一种荧光探针性能优化的设计思路，以席夫碱结构改性芳环骨架结构，调制分子内电荷转移构成实现显著的荧光“turn-on”效应。

本文针对有机磷神经毒剂的现场实时检测，提出以席夫碱为骨架来实现荧光“turn-on”，并结合三联吡啶作为端基时的光稳定性和敏感性来设计高性能有机磷神经毒剂传感探针。同时，基于前期本课题组的系列超分子发光体系工作，我们也将引入金属配位结构，通过离子键、氢键等超分子相互作用，与席夫碱结构强强联合，协同构造得到更高性能的“turn-on”敏感体系。

1 实验

我们设计并合成了一类以席夫碱为骨架、三联吡啶为端基的有机分子 TBH，由于 TBH 与醋酸锌能够形成良好的有机金属配合物，配合物比例为 TBH: 醋酸锌 = 1: 2，该配合物能够很好的作为 DCP 的荧光传感探针，通过与 DCP 形成有机金属配位超分子结构，实现更高效的荧光增强效应。

1.1 实验药品及仪器

化学试剂及原料都为商业途径购买，若无特殊说明，均为直接使用无需进一步提纯，所有的有机溶

剂皆为分析纯。其中 4′-(4-甲酰基苯基)-2,2′:6′,2″-三联吡啶、水合肼、对苯二胺、亚磷酸二乙酯、乙酸采购自上海麦克林;硝酸锌采购自国药集团;氰基磷酸二乙酯、磷酸三乙酯、氯磷酸二乙酯、甲基磷酸二甲酯采购自上海阿拉丁;无水乙醇、甲醇、丙酮、三氯甲烷、四氯甲烷采购自上海凌峰;乙酸锌、四氢呋喃采购自上海展云。

实验仪器包括德国 IKA 公司的 RCT digital 磁力加热搅拌器;上海森信 DZG-6020 真空干燥箱;中科院微电子所 KW-4A 型台式匀胶机;美国 Novascan SDP-UVT 紫外臭氧处理仪。此外,核磁谱和质谱测试在上海有机化学研究所进行,分别采用 Bruker DRX 500 超导核磁共振仪以及 Thermo Fisher Scientific Orbititrap-FTMS 以及 LTQ FT Ultra 质谱仪。

光谱测试在课题组自有平台进行,其中荧光性能测试采用 HORIBA Fluoromax Plus 型荧光光谱仪;紫外可见吸收光谱采用 JASCO V-670 紫外可见吸收光谱仪。理论建模及轨道计算采用 Materials studio 8 软件。

1.2 荧光探针分子的制备

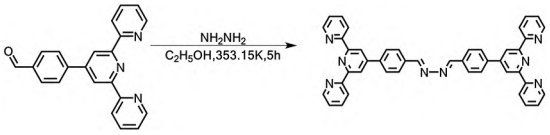

图 1 TBH 荧光探针的合成路线

Figure 1 synthesis route of TBH fluorescent probe

TBH 制备:

将原料 4′-(4-甲酰基苯基)-2,2′:6′,2″-三联吡啶(1.00g)溶解在 300ml 乙醇溶剂中,加入水合肼(100μL),装入 500mL 的双口瓶中,加入磁子搅拌,在磁力加热搅拌器是恒定在 80℃下进行冷凝回流,5h 后趁热过滤得淡黄色固体粉末,用乙醇溶剂进行清洗,在真空干燥箱中进行干燥,干燥后得到 660.9 mgTBH,产率约为 66.1 %。

高分辨质谱 HRMS-AP-MALDI (m/z): [M+H]$^+$ calc'd for $[C_{44}H_{31}N_8]^+$, 671.26, found 671.2673。

核磁氢谱^{1}H-NMR (600 MHz, THF) δ8.64-8.62 (m, 6H), 8.62-8.60 (m, 4H), 8.06 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 4H), 7.82 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 4H), 7.31-7.27 (m, 8H)。

TBH-Zn 配合物制备:

将 6.70mg 的 TBH 溶解在 5mLTHF 溶剂中,4.40mg的乙酸锌溶解在 5mL 甲醇中,将 TBH 的 THF 溶液缓慢滴加至乙酸锌的甲醇溶液中,配置成 TBH-Zn 溶液,溶液中形成 TBH: Zn^{2+} = 1: 2 比例配位的配合物。

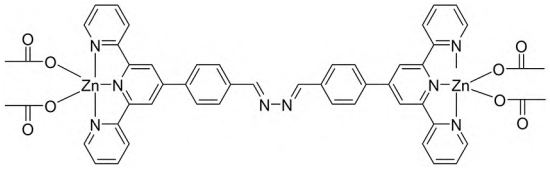

图 2 TBH-Zn 配合物分子结构

Figure 2. Molecular structure of the TBH-Zn complexes

溶液制备与液相测试:

将 13.4mg 的 TBH 溶解在 10mL 的 THF 溶液中,得到 TBH 溶液;将 TBH 与 Zn^{2+}以 1: 2 的比例溶解与 THF 溶液中,配置得到 TBH-Zn 配合物溶液。取 3mL TBH、TBH-Zn 溶液于比色皿中,将比色皿放进荧光光谱仪中进行检测,将 1mg DCP 溶解在 10mL 的无水乙醇中得到 DCP 溶液,每次取 3μL 的 DCP 溶液滴入 TBH 溶液中,测试得到 TBH 及配合物的液相 DCP 传感性质。

2 结果与讨论

DCP 液相检测:

基于上述策略,我们成功合成获得了三联吡啶席夫碱分子敏感材料及其配合物敏感材料,成功实现了液相模式下对 DCP 的高效传感性能。

如图 3 所示,液相中 TBH 的荧光发射峰大约在 541nm 处,随着 DCP 的滴加,荧光发射峰逐渐增强,滴加 30μL DCP 溶液时荧光响应值大约增加了一倍。相同的条件下,TBH-Zn 配合物溶液的传感性能明显更优秀,其荧光发射峰大约在 425nm 处,如图 4,随着 DCP 的滴加,荧光发射峰逐渐增强,在滴加 27μL 的 DCP 溶液时,荧光增强了约 3 倍,说明 TBH-Zn 配合物探针在液相检测中继承了配位前 TBH 探针的荧光增强型传感特性,并通过金属配位进一步提升了传感性能,荧光增强比 TBH 溶液更为明显,显示出针对 DCP 的更为显著的荧光信号变化。

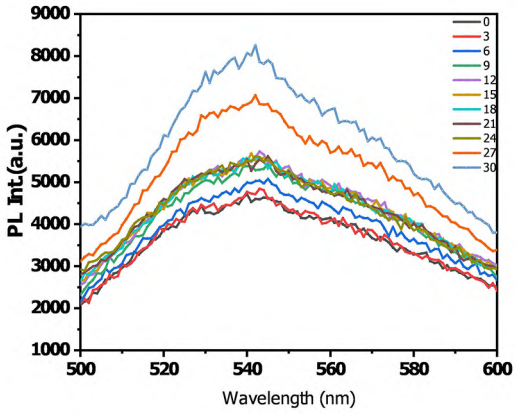

图 3　TBH 溶液随 DCP 浓度的荧光发射光谱变化

Figure 3 The fluorescence emission spectrum of TBH solution along with varied DCP concentration

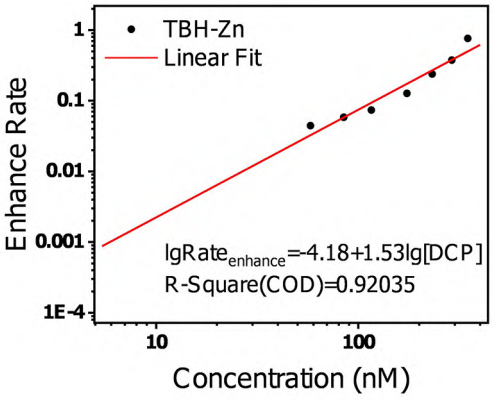

图 5　TBH-Zn 溶液随 DCP 浓度的荧光增强比率图及线性拟合曲线。

Figure 5 Emission enhancement rates of TBH-Zn in different DCP concentration and linear fit curve.

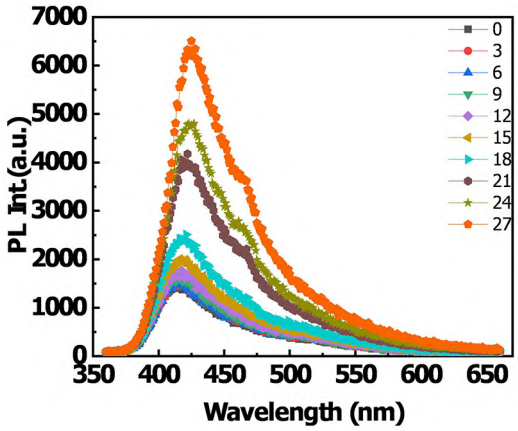

图 4　TBH-Zn 配合物溶液随 DCP 浓度的荧光发射光谱变化

Figure 4 The fluorescence emission spectrum of TBH-Zn complex solution along with varied DCP concentration

我们进一步对 TBH-Zn 配合物溶液在不同浓度 DCP 下的荧光增强率数据进行对比，如图 5 所示，我们发现配合物溶液对 DCP 的实测最低检出浓度低至 58 nM，此时依然高达 4.5%的荧光增强率。通过线性拟合可知，该配合物探针对 DCP 的理论检测限为 26.6 nM(1%荧光增强)，具有很高的灵敏度。

鉴于配合物溶液足够大的荧光增强倍率，该探针可以通过肉眼观察。如图 6 所示，在 3mL 10^{-5} mol/L TBH 以及 TBH-Zn 配合物 THF 溶液中，滴加 1 滴 DCP 后，在 365nm 紫外灯照射下，能够明显发现溶液从几乎没有荧光转变为肉眼可见的黄绿色荧光，且传感后配合物溶液的荧光显著优于 TBH 溶液。

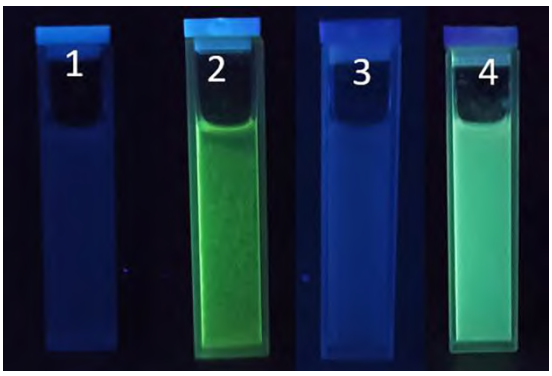

图 6　在 365nm 紫外灯下，1: TBH 溶液; 2: TBH 溶液与 DCP 反应后; 3: TBH-Zn 溶液; 4: TBH-Zn 与 DCP 反应后的荧光照片

Figure 6Photos of TBH solution (1) before and (2) after reacting with DCP; TBH-Zn solution(3) before and (4) after reacting with DCP, excited by 365nm UV light.

除了高灵敏度外，该配合物荧光探针对 DCP 识别也具有很好的选择性。从图 7 和图 8 可以看到加入相同浓度的待测物时，DCP 会引起荧光显著增强达到初始强度的 257%，而对于磷酸三乙酯(TEP)、甲膦酸二甲酯(DMMP)、氰磷酸二乙酯(DCNP)、亚磷酸二乙酯(DEP)等有机磷干扰物，荧光强度仅仅分别达到可见传感探针具有良好的液相选择性。

机理研究:

根据液相荧光发射光谱，TBH 溶液的荧光发射峰在传感前后均处于 541nm 附近，而 TBH 配合物溶

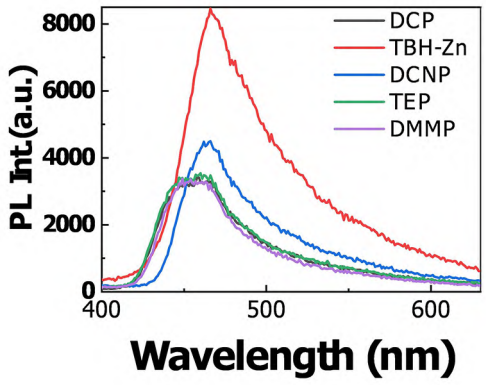

图 7　TBH－Zn 溶液及其加入 3μg DCP、DCNP、TEP、DMMP 后的荧光发射光谱。

Figure 7 Fluorescence emission spectrum of TBH－Zn solution before and after addition of DCP, DCNP, TEP, and DMMP.

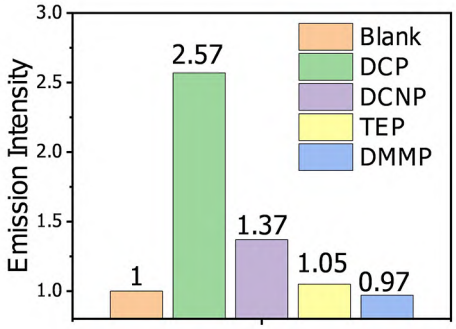

图 8　TBH－Zn 对 3 μg 有机磷干扰物的液相荧光响应

Figure 8 Liquid－phase fluorescence response of TBH－Zn to organophosphorusinterferents

液的荧光发射波长在传感前后均远小于 TBH 溶液，其最大发射峰从传感前的 415nm 处，明显红移至传感后的 425nm 处。配合物荧光发射峰的蓝移可能由金属－三联吡啶配位导致。

对照理论计算所得两种探针体系的最高占据轨道 HOMO 和最低未占据轨道 LUMO 空间分布，首先，我们将 TBH 与 TBH－Zn 结构进行动力学优化得到其能量最低的稳定构型，继而通过第一性原理计算得到其前线轨道。通过如图 9 和图 10 所示，TBH 的 HOMO 与 LUMO 均离域在整个席夫碱共轭芳环结构上，而相对而言，配合物结构中三联吡啶氮原子的孤对电子与醋酸锌结构形成了很强的离子键，导致 HOMO 和 LUMO 轨道发生明显的定域化，故而 TBH－Zn 相较于 TBH，芳香体系的离域程度降低，导致其具有明显蓝移的荧光发射波长。同时，TBH－Zn 配位结构的 HOMO、LUMO 轨道均离域在醋酸根、锌离子和三联吡啶结构之间，证实了配位结构各组分之间的高效结合，形成了新的敏感位点。

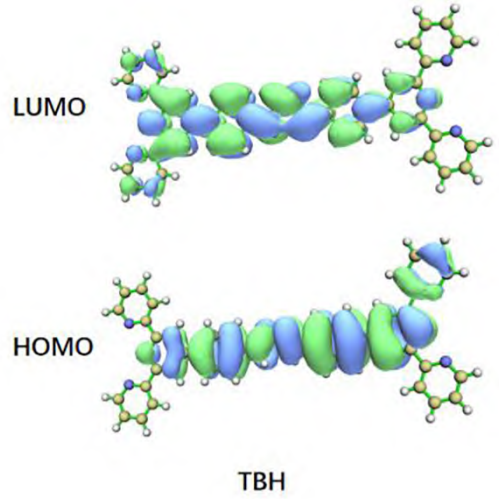

图 9　TBH 结构的前线轨道分布图。

Figure 9. Frontier orbital distributions of TBH structure.

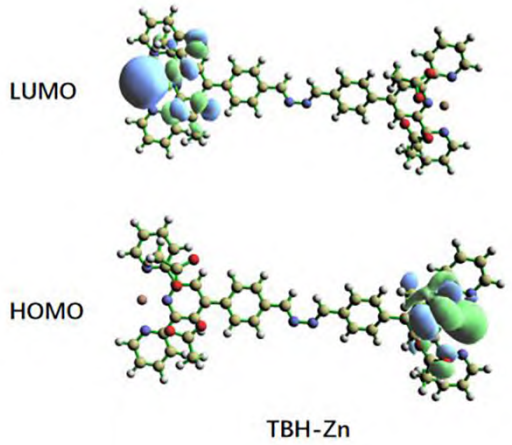

图 10　TBH－Zn 结构的前线轨道分布图。

Figure 10. Frontier orbital distributions of TBH－Zn.

针对 TBH－Zn 配合物溶液相对于 TBH 溶液明显提升的“turn－on”性能，我们在两种结构模型的基础上，对传感后的质子化结构进行了相应的理论计算。理论计算中，我们基于经过优化的 TBH 与 TBH－Zn 结构，在其上键合 DCP 水解带来的质子，并配以另一种水解物种氯离子以平衡配位体系纸质化后的电荷。

表 1　Materials Studio 软件计算参数设置

Table 1 Materials Studio Software calculation parameters

Step 1.Forcite Geometry Optimization	Step 2.Forcite Dynamics
Ensemble: NVE Quality: Ultra-fine Forcefield: COMPASS II Charges: Forcefield assigned Quality: Ultra-fine Summation method: Electrostatic: atom based; Van der waals: atom based	Ensemble: NVE Total simulation time: 50 ps Quality: Ultra-fine Forcefield: COMPASS II Charges: Forcefield assigned Quality: Ultra-fine Summation method: Electrostatic: atom based; Van der waals: atom based

根据质子化结构的前线轨道，如图 10 所示，传感之后 TBH-DCP 结构的 HOMO 和 LUMO 轨道均明显定域到同一个三联吡啶基团附近，其 HOMO 轨道主要集中于与三联吡啶离子键合的质子之上，而 LUMO 轨道则小范围离域在三联吡啶芳环上，相比之下，图 9 中 TBH 分子由于 HOMO 和 LUMO 轨道高度重叠，故而传感之后 TBH-DCP 结构相对于 TBH 结构，具有更强的电荷转移特征，从而导致发光性能的改善，实现“turn-on”效应。

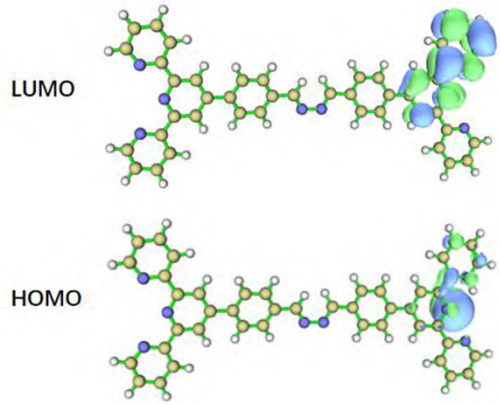

图 11　TBH-DCP 结构前线轨道分布图。

Figure 11. Frontier orbital distributions of TBH-DCP .

类似的，根据图 12 所示结果，TBH-Zn-DCP 结构的 HOMO、LUMO 轨道的离域化程度均远远优于传感之前 TBH-Zn 结构。HOMO 轨道离域在质子化的三联吡啶醋酸锌配位单元上，密度最大区域处于

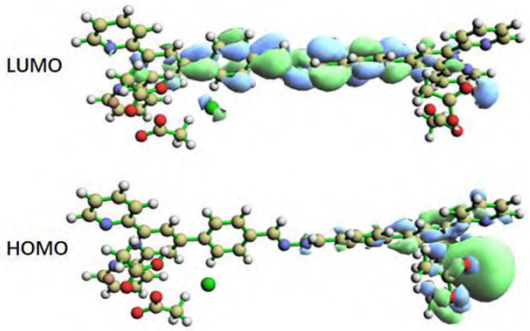

图 12　TBH-Zn--DCP 结构前线轨道分布图。

Figure 12. Frontier orbital distributions of TBH-Zn-DCP .

质子化的醋酸结构上，而 LUMO 轨道更是离域在整个三联吡啶-席夫碱结构之上。由于前线轨道的有效离域化，HOMO，LUMO 轨道出现了明显的交叠区域，使得分子内电荷转移效应能够更大概率发生，而图 9 中 TBH 结构 HOMO，LUMO 轨道分别处于敏感结构的两端，很难发生有效的电荷转移。同时，HOMO、LUMO 轨道除了小部分重叠区域的形成之外，更大范围处于未重叠区域，十分有利于分子内电荷转移。

故而 TBH-Zn-DCP 的前线轨道分布说明了该结构与 DCP 作用之后荧光发射机制，也吻合配合物结构相对于 TBH 更强的“turn-on”效应。

3　结论

综上所述，我们通过设计并合成一类三联吡啶-锌有机金属配合物，并将其应用于沙林模拟物的传感检测中，在溶液中能检测出微量的 DCP，均为荧光增强模式。TBH 溶液和 TBH-Zn 配合物溶液在与 DCP 反应后肉眼可见的荧光增强，且较为灵敏，能够检测出微量的 DCP 溶液。在这个过程中 TBH-Zn 配合物表现出更优良的传感性能，由于此前研究多为单纯的有机荧光探针分子，本论文拓展了荧光传感器材料的选择范围，将有机金属配合物制备成荧光传感器材料，对未来的荧光传感器材料研发具有重要意义。

此外，该配位荧光探针的设计理念中，通过配位与席夫碱改性双管齐下，共同参与调制荧光结构电荷转移作用，实现“turn-on”性能的高效激活，也将为后续的探针结构设计提供了一种新的思路。

参考文献:

[1] Suhasini R, Karpagam R, Thirumoorthy K, et al. "Turn-on" unsymmetrical azine based fluorophore for the selective detection of diethylchlorophosphate via photoinduced electron transfer to intramolecular charge transfer pathway [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021.

[2] Zheng P, Cui Z, Liu H, et al. Ultrafast-response, highly-sensitive and recyclable colorimetric/fluorometric dual-channel chemical warfare agent probes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021.

[3] Van Houten K A, Heath D C, Pilato R S. Rapid Luminescent Detection of Phosphate Esters in Solution and the Gas Phase Using (dppe) Pt{S2C2(2-pyridyl)(CH2CH2OH)} [J]. Journal of the American Chemical Society, 1998, 120(47): 12359-12360.

[4] Zhang S W, Swager T M. Fluorescent detection of chemical warfare agents: functional group specific ratiometric chemosensors [J]. J Am Chem Soc, 2003, 125(12): 3420-1.

[5] Lu Z, Fan W, Shi X, et al. A highly specific BODIPY-based fluorescent probe for the detection of nerve-agent simulants [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 255: 176-182.

[6] Yao J, Fu Y, Xu W, et al. Concise and Efficient Fluorescent Probe via an Intromolecular Charge Transfer for the Chemical Warfare Agent Mimic Diethylchlorophosphate Vapor Detection [J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(4): 2497-2501.

[7] Xu W, Fu Y, Yao J, et al. Aggregation State Reactivity Activation of Intramolecular Charge Transfer Type Fluorescent Probe and Application in Trace Vapor Detection of Sarin Mimics [J]. ACS Sensors, 2016, 1(8): 1054-1059.

[8] Huo B, Du M, Shen A, et al. "Covalent-Assembly"-Based Fluorescent Probe for Detection of a Nerve-Agent Mimic (DCP) via Lossen Rearrangement [J]. Anal Chem, 2019, 91(17): 10979-10983.

[9] Feng X, Wang Y, Feng W, et al. Development of BINOL-Si complexes with large stokes shifts and their application as chemodosimeters for nerve agent [J]. Chinese Chemical Letters, 2020, 31(11): 2960-2964.

[10] Zhao J, Qin M, You J, et al. Rapid and colorimetric evaluation of G-series nerve agents and simulants using the squaraine-ethanolamine adducts [J]. Dyes and Pigments, 2022, 197.

[11] Zhang H, Hua X, Tuo X, et al. Polystyrene microsphere-based lanthanide luminescent chemosensor for detection of organophosphate pesticides [J]. Journal of Rare Earths, 2012, 30(12): 1203-1207.

[12] Gupta K, Patra A K. Luminescent Europium(III) "Turn-On" Sensor for G-Series Chemical Warfare Simulants: A Mechanistic Investigation [J]. ACS Sens, 2020, 5(5): 1268-1272.

[13] Jiang H, Wu P, Zhang Y, et al. Hyperbranched polymer based fluorescent probes for ppt level nerve agent simulant vapor detection [J]. Analytical Methods, 2017, 9(11): 1748-1754.

[14] Fu Y, Yu J, Wang K, et al. Simple and Efficient Chromophoric-Fluorogenic Probes for Diethylchlorophosphate Vapor [J]. Acs Sensors, 2018, 3(8): 1445-1450.