

功能材料

## 基于咖啡酸的水合肼荧光探针的合成及应用

宋 健<sup>1</sup>, 杨晓琴<sup>1</sup>, 张颖君<sup>2</sup>, 饶小平<sup>3</sup>, 赵 平<sup>1\*</sup>, 姜 倩<sup>1\*</sup>

(1. 西南林业大学 西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室, 云南 昆明 650224; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201; 3. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 以天然产物咖啡酸为原料, 设计、合成了一种可快速识别水合肼 ( $N_2H_4$ ) 的咖啡酸乙酯荧光探针 (ED)。通过  $^1H$ NMR、 $^{13}C$ NMR 和 HRMS 对其结构进行了表征。探针 ED 对  $N_2H_4$  具有高选择和高灵敏度识别, 检测极限为  $0.31 \mu\text{mol/L}$ , 最适 pH 范围为 3~8, 响应时间为 48 s。采用 HRMS 和  $^1H$ NMR 确定探针与  $N_2H_4$  的作用机理, 结果表明, 探针 ED 与  $N_2H_4$  作用后不饱和酮结构与  $N_2H_4$  反应后生成吡唑环。此外, 探针 ED 与  $N_2H_4$  作用后, 溶液颜色从无色变为黄色, 可实现  $N_2H_4$  的“裸眼检测”, 并成功用于水样中  $N_2H_4$  的检测。

**关键词:** 咖啡酸; 荧光探针; 水合肼; 快速识别; 检测试纸; 功能材料

中图分类号: X832 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2023) 01-0050-06

## Synthesis and application of caffeic acid based fluorescent probe for detection of hydrazine hydrate

SONG Jian<sup>1</sup>, YANG Xiaoqin<sup>1</sup>, ZHANG Yingjun<sup>2</sup>, RAO Xiaoping<sup>3</sup>, ZHAO Ping<sup>1\*</sup>, JIANG Qian<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Efficient Utilization of Forest Biomass Resources in Southwest China, National Forestry and Grassland Administration, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, Yunnan, China; 3. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, Fujian, China)

**Abstract:** Ethyl caffeate fluorescent probe (ED) for rapid detection of hydrazine hydrate ( $N_2H_4$ ) was designed and synthesized from caffeic acid. Its structure was then characterized by  $^1H$ NMR,  $^{13}C$ NMR, and HRMS. The fluorescent probe ED could detect  $N_2H_4$  with high selectivity and sensitivity with a detection limit of  $0.31 \mu\text{mol/L}$ , optimal pH range of 3~8, and response time of 48 s. Moreover, the possible detection mechanism was explored by HRMS and  $^1H$ NMR, which showed that pyrazole ring was formed by the reaction of the unsaturated ketone in the probe structure and  $N_2H_4$ . In addition, the color of solution changed from colorless to yellow after the probe ED interacted with  $N_2H_4$ , which could realize the "naked eye detection" of  $N_2H_4$ . Probe ED had been successfully used for the detection of  $N_2H_4$  in actual water samples.

**Key words:** caffeic acid; fluorescent probe; hydrazine hydrate; rapid detection; test paper-strip; functional materials

水合肼 ( $N_2H_4$ ) 又称联氨, 作为一种重要的精细化工原料<sup>[1]</sup>, 被广泛应用于药物合成、农药生产、火箭燃料、水处理、橡胶添加剂等领域<sup>[2]</sup>。肼是无

色易燃液体, 具有较强的毒性且不稳定<sup>[3-5]</sup>, 很容易经过皮肤组织渗透或口腔进入到人的体内, 对眼睛、肝脏、肾脏和中枢神经系统造成严重损伤<sup>[6-7]</sup>。由于

收稿日期: 2022-05-28; 定用日期: 2022-08-26; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220503

基金项目: 国家自然科学基金地区项目 (32160350); 云南省科技厅基础研究专项青年项目 (2060206); 西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室开放课题研究基础项目 (2020-KF01); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202205AC160049)

作者简介: 宋 健 (1997—), 男, 硕士生, E-mail: sj041820@163.com。联系人: 赵 平 (1965—), 男, 研究员, E-mail: hypzhao@yahoo.com; 姜 倩 (1987—), 女, 博士, 讲师, E-mail: ml17368708632@163.com。

$N_2H_4$  应用广泛、毒性高, 各国家对其在饮用水中的浓度作出相应规定, 如: 美国环境保护署 (EPA) 规定饮用水中  $N_2H_4$  的质量浓度不得高于  $10 \mu\text{g/mL}$ 。因此, 对于  $N_2H_4$  的识别与检测, 特别是低浓度的检测尤为重要<sup>[8-10]</sup>。建立一种高灵敏度、高选择性的  $N_2H_4$  快速检测方法具有十分重要的意义。

传统的  $N_2H_4$  检测方法包括紫外分光光度法、滴定法、色谱法、电化学法、拉曼光谱法和质谱法等<sup>[11-15]</sup>。与传统检测方法相比, 荧光分析法具有操作简便、成本较低、灵敏度高、仪器简单等特点, 并且适用于细胞和生物体内的检测, 是一种理想的  $N_2H_4$  检测方法<sup>[16-18]</sup>。因此, 研究人员设计开发了多种用于  $N_2H_4$  检测的荧光探针。然而, 大多数  $N_2H_4$  荧光探针都存在合成工艺复杂、反应速度慢、灵敏度低等问题<sup>[2,19-21]</sup>。因此, 不断改善  $N_2H_4$  荧光探针的光学性质, 设计开发具有理想的灵敏度、响应时间和生物相容性的荧光探针依然是研究的重点。

咖啡酸又称为 3,4-二羟基肉桂酸, 普遍存在于食物和中药中。作为一种重要的多酚类物质, 咖啡酸具有多种生物活性, 是一种非常重要的微量营养素<sup>[22-23]</sup>, 具有良好的应用前景<sup>[24-27]</sup>。近年来, 对咖啡酸的研究主要集中在对其生物活性的研究。本文选择以咖啡酸为原料合成咖啡酰基荧光探针, 探针结构中不饱和酮结构作为识别基团与  $N_2H_4$  反应后生成吡唑环结构, 为进一步证明结构中不饱和羰基作为识别基团与  $N_2H_4$  反应, 本文以二氢咖啡酸为原料合成二氢咖啡酸乙酯作为对照。以咖啡酸为原料合成  $N_2H_4$  荧光探针, 一方面有利于发挥咖啡酸的资源优势, 为咖啡酸的进一步开发利用提供新的方法支持; 另一方面咖啡酸结构中共轭结构有利于荧光性能的改善。通过深入挖掘咖啡酸资源在荧光领域中的应用, 有望拓宽咖啡酸资源的高附加值利用途径。

本研究以咖啡酸为原料, 通过一步反应制备咖啡酸衍生物, 化合物可以作为快速识别  $N_2H_4$  的咖啡酰基荧光探针。检测过程具有选择性好、灵敏度高、pH 适用范围宽、响应时间短等特点。探针与  $N_2H_4$  反应前后溶液颜色由无色变为黄色, 可以实现对  $N_2H_4$  的“裸眼检测”。此外, 探针可以用于不同水样中  $N_2H_4$  的痕迹检测。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

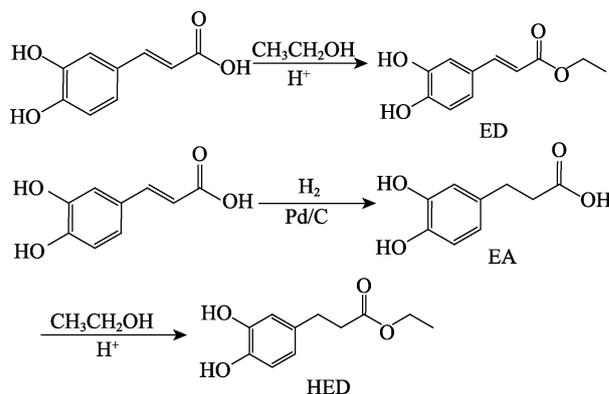
咖啡酸、无水乙醇、硅胶粉、乙酸乙酯、石油醚、浓硫酸等均为市售分析纯, 未经进一步处理直接使用。光谱实验中, 水合肼 (质量分数 80%)、所需盐 [  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 、 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 、 $FeSO_4 \cdot H_2O$ 、无

水  $FeCl_3$ 、无水  $AlCl_3$ 、无水  $CaCl_2$ 、无水  $BaCl_2$ 、 $Cr(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ 、 $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 、无水  $NaF$ 、无水  $NaCl$ 、无水  $Na_2CO_3$ 、无水  $NaHCO_3$ 、无水  $NaNO_3$ 、无水  $NaHSO_3$ 、无水  $Na_2SO_3$  ] 以及含氨基化合物 { 甲胺 ( $CH_3NH_2$ )、乙胺 ( $C_2H_7N$ )、乙二胺 ( $C_2H_8N_2$ )、羟胺 ( $NH_2OH$ )、尿素 [  $CO(NH_2)_2$  ]、硫脲 ( $CH_4N_2S$ )、半胱氨酸 (Cys)、谷胱甘肽 (GSH)、同型半胱氨酸 (Hcy)、甘氨酸 (Gly)、谷氨酸 (Glu) } 均购自上海泰坦科技股份有限公司。

F-7100 荧光分光光度计、UH5300 紫外-可见分光光度计, 日本日立公司; JMS-800D 高分辨质谱仪, 日本电子株式会社; FM-4P-TCSPC 瞬态/稳态荧光光谱仪, 德国 HORIBA JobinYvon 公司; AV 400 MHz 核磁共振波谱仪, 德国 Bruker 公司; STARTER 2100 pH 测试仪, 奥豪斯仪器(上海)有限公司; N-1300 旋转蒸发仪, 上海爱朗仪器有限公司。

### 1.2 目标化合物的合成

咖啡酸乙酯 (ED) 和二氢咖啡酸乙酯 (HED) 的合成路线如下:



ED 的合成: 将咖啡酸 (500 mg, 2.8 mmol) 加入无水乙醇 (30 mL) 中, 采用浓硫酸 (0.5 mL) 作为催化剂, 在  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  下加热回流 4 h, 采用薄层色谱 (TLC) 跟踪反应进程 [  $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 2 : 1$  ], 反应完毕后, 减压浓缩回收溶剂后, 用乙酸乙酯萃取, 洗涤至中性, 有机层经  $MgSO_4$  干燥, 过滤后, 回收溶剂, 剩余物通过柱层析分离 [  $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 2 : 1$  ] 作洗脱剂, 得到 418 mg 黄色固体 ED, 产率为 71.8%。 $^1H$ NMR (400 MHz,  $CDCl_3-d_6$ ),  $\delta$ : 8.27 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 7.88 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.59 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 7.40 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.01 (dd,  $J = 8.2$ 、2.0 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 4.26 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.33 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.26 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H)。 $^{13}C$ NMR (101 MHz,  $DMSO-d_6$ ),  $\delta$ : 167.02, 148.84, 146.03, 145.46, 125.97, 121.80, 116.19, 115.27, 114.50, 60.15, 14.73。HRMS(ESI),  $m/z$ : [ $C_{11}H_{12}O_4 + H$ ] $^+$ 理论值 209.0937,

测试值 209.0831。

二氢咖啡酸 (EA) 的合成: 将咖啡酸 (500 mg, 2.8 mmol) 加入甲醇 (10 mL) 中, 采用 Pd 质量分数 5% 的 Pd/C (0.1 g) 作为催化剂, 在室温下通入氢气搅拌 5 h, 反应结束后过滤, 用甲醇洗涤, 回收溶剂, 得到 475 mg 淡黄色固体 EA, 产率为 95.0%。<sup>1</sup>HNMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 12.04 (s, 1H), 8.70 (d,  $J = 34.4$  Hz, 2H), 6.64~6.54 (m, 2H), 6.43 (dt,  $J = 8.1$ 、2.7 Hz, 1H), 2.64 (dt,  $J = 11.9$ 、7.5 Hz, 2H), 2.43 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H)。<sup>13</sup>CNMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 174.38, 145.44, 143.84, 132.14, 119.22, 116.09, 115.90, 36.17, 30.23。HRMS(ESI),  $m/z$ : [C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> 理论值 183.0812, 测试值 183.0785。

HED 的合成: 称取 EA (500 mg, 2.7 mmol), 将其加入无水乙醇 (30 mL) 中, 采用浓硫酸 (0.5 mL) 作为催化剂, 在 70 °C 下加热回流 6 h, 采用 TLC 跟踪反应进程, 反应完毕后, 减压浓缩回收溶剂后, 用乙酸乙酯萃取, 洗涤至中性, 有机层经 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 过滤后, 回收溶剂, 剩余物通过柱层析分离 [V(乙酸乙酯): V(石油醚)=1:1] 作洗脱剂, 得到 393 mg 黄色固体 HED, 产率为 78.7%。<sup>1</sup>HNMR (500 MHz, 丙酮-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 8.14~7.92 (m, 2H), 7.55 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 7.18 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 4.20 (q,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.08 (q,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 2.77 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 2.53 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 1.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H)。<sup>13</sup>CNMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 172.78, 148.84, 146.02, 131.76, 125.97, 119.23, 115.25, 60.18, 36.05, 30.20, 14.66。HRMS(ESI),  $m/z$ : [C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> 理论值 211.0976, 测试值 211.0892。

### 1.3 化合物光谱性能的测试

称取被测化合物 (ED、HED), 用体积比 1:1 的 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 和蒸馏水配成浓度为 1.0 mmol/L 的探针母液。测试时移取母液 20  $\mu$ L 并用 DMF 溶液 [V(DMF): V(H<sub>2</sub>O)=1:1] 定容至 2 mL, 滴加 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 水溶液, 配成含不同浓度 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (0~100  $\mu$ mol/L) 的探针溶液。测试含不同浓度 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 的探针溶液的紫外-可见吸收光谱和荧光光谱变化情况。

在动力学响应、pH 响应实验中, 将 20  $\mu$ L (1.0 mmol/L) 探针 ED 母液加入 2 mL DMF 溶液 [V(DMF): V(H<sub>2</sub>O)=1:1] 中, 再加入 20  $\mu$ L (4.0 mmol/L) N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 溶液, 记录在不同时间点、不同 pH 下的荧光光谱。在选择性测试实验中, 将 20  $\mu$ L (1.0 mmol/L) 探针 ED 母液加入 2 mL DMF 溶液 [V(DMF): V(H<sub>2</sub>O)=1:1] 中, 再加入 20  $\mu$ L (4.0 mmol/L) 含不同阴阳离子的盐及含氨基化合物。记录不同阴阳离子及含氨基化合物加入后体系荧光光谱的变化情况。荧光光谱测试中激发波长 420 nm, 扫描波长范围为 440~700 nm, 狭缝宽度为 10 nm。

### 1.4 实际水样检测实验

选择自来水、矿泉水 (百岁山天然矿泉水)、蒸馏水 (实验室用蒸馏水) 为测试样本, 称取探针 ED 用 DMF/测试样本水 (体积比 1:1) 配成浓度为 1.0 mmol/L 的探针母液。测试时分别移取母液 20  $\mu$ L 并用 DMF 溶液 [V(DMF): V(测试样本水)=1:1] 定容至 2 mL, 滴加 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 水溶液, 配成不同浓度 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 溶液 (15、20、25、30、35、40  $\mu$ mol/L), 测试滴入不同浓度 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 溶液后在 493 nm 处荧光强度的变化。

再分别移取母液 20  $\mu$ L 并用 DMF 溶液 [V(DMF): V(测试样本水)=1:1] 定容至 2 mL, 滴加 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 水溶液, 配成不同浓度 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 溶液 (15、18、20、25  $\mu$ mol/L), 计算该法回收率。

回收率/% = (样品检测 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 浓度/实际添加 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 浓度) × 100

## 2 结果与讨论

### 2.1 化合物的结构表征

化合物 ED、EA、HED 的化学结构通过 <sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR、HRMS 进行表征。化合物 ED 的 <sup>1</sup>HNMR 谱中,  $\delta$  8.27、7.88 处出现羟基氢的信号,  $\delta$  7.01~7.59 处出现 3 个苯环氢的信号,  $\delta$  5.99、5.88 处出现烯基氢的信号,  $\delta$  4.26 处出现与酯基相连的亚甲基氢的信号,  $\delta$  1.26~1.33 处出现甲基氢的信号; 高分辨质谱 [C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> 峰为 209.0831, 理论值为 209.0937。化合物 EA 的 <sup>1</sup>HNMR 谱中,  $\delta$  12.04 处出现羧基氢的信号,  $\delta$  8.70 处出现羟基氢的信号,  $\delta$  6.43~6.64 处出现苯环氢的信号,  $\delta$  2.64~2.43 处出现加氢后亚甲基氢的信号; 高分辨质谱 [C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> 峰为 183.0785, 理论值为 183.0812。化合物 HED 的 <sup>1</sup>HNMR 谱中,  $\delta$  8.14~7.92 处出现羟基氢的信号,  $\delta$  6.74~7.55 处出现苯环氢的信号,  $\delta$  4.08, 4.20 处出现与酯基相连的亚甲基氢的信号,  $\delta$  2.53~2.77 处出现加氢后亚甲基氢的信号,  $\delta$  1.28 处出现甲基氢的信号; 高分辨质谱 [C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>+H]<sup>+</sup> 峰为 211.0892, 理论值为 211.0976。以上结果证明, 制备的化合物结构为目标产物。

### 2.2 化合物的荧光特性

通过荧光光谱法和紫外-可见吸收光谱法, 系统分析了化合物 ED 和 HED 加入 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 前后光谱的变化, 结果见图 1。如图 1A 所示, 探针 ED (10  $\mu$ mol/L) 在 325 nm 处显示出紫外吸收峰, 随着 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (100  $\mu$ mol/L) 的加入, 溶液在 325 nm 处紫外吸收峰消失, 而在 367 nm 处出现红移后的紫外吸收峰。同时, 溶液颜色由无色变为黄色。而向化合物 HED 溶液中滴入 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (100  $\mu$ mol/L), 溶液颜色未出现

任何变化。由图 1B 可见, 化合物 ED 溶液中滴入  $N_2H_4$  (100  $\mu mol/L$ ) 后, 溶液在 493 nm 处的荧光强度比未加  $N_2H_4$  时增强了约 40 倍, 溶液荧光颜色由未加时的无色变为绿色 (荧光量子产率为 0.46), 而向化合物 HED 中滴入  $N_2H_4$  (100  $\mu mol/L$ ) 后, 溶液荧光颜色未发生变化, 是由于化合物 ED 结构中不饱和羰基与亲核试剂  $N_2H_4$  反应生成环化产物, 进而引起荧光光谱发生变化, 而化合物 HED 中不存在不饱和羰基, 不能与  $N_2H_4$  发生反应<sup>[28]</sup>。由此得出, 化合物 ED 可作为颜色“开-关”型荧光探针, 用于溶液中  $N_2H_4$  的检测。

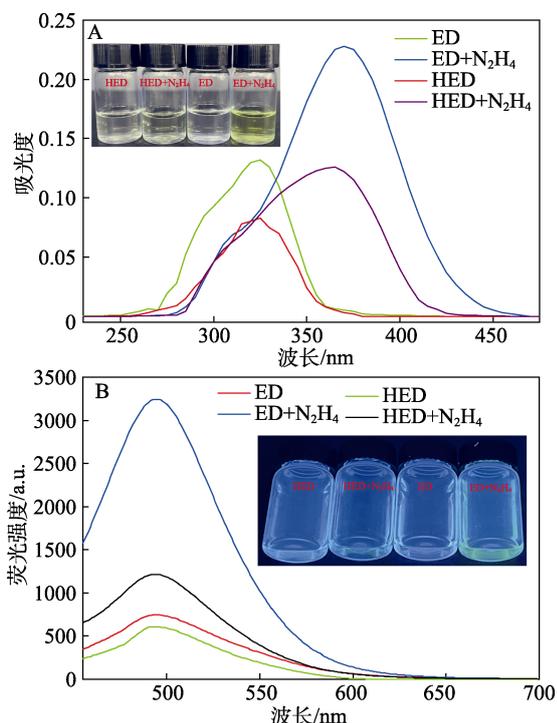


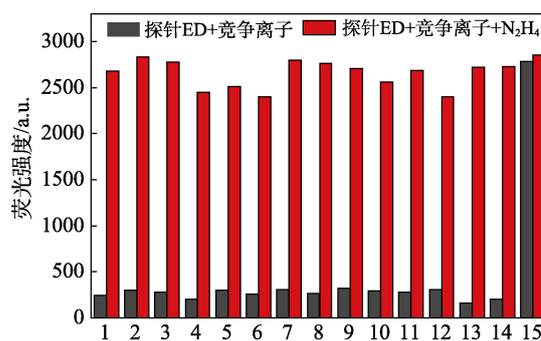
图 1 化合物 ED、HED 加入  $N_2H_4$  前后的 UV-Vis 吸收光谱 (A) 和荧光光谱 (B)

Fig. 1 UV-Vis absorption spectra (A) and fluorescence spectra (B) of probe compounds ED, HED before and after adding  $N_2H_4$

### 2.3 探针的荧光选择性

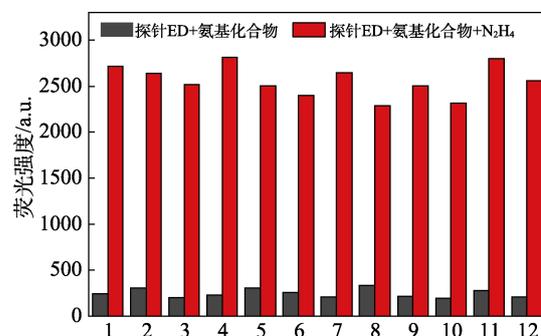
为了研究该探针对  $N_2H_4$  的选择性和实用性, 选取了部分可能产生干扰的金属离子 ( $Mg^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Al^{3+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Ba^{2+}$ 、 $Cr^{3+}$ 、 $Cd^{2+}$ )、阴离子 ( $Cl^-$ 、 $CO_3^{2-}$ 、 $HCO_3^-$ 、 $NO_3^-$ 、 $HSO_3^-$ ) (图 2) 以及含氨基化合物 (甲胺、乙胺、乙二胺、羟胺、尿素、硫脲、Cys、GSH、Hcy、Gly、Glu) (图 3) 来考察探针 ED 的选择性和抗干扰性。结果表明, 只有在探针 ED 溶液 [ $V(DMF) : V(H_2O) = 1 : 1$ ] 中加入  $N_2H_4$  后溶液荧光强度出现明显变化, 其他分析物不会干扰  $N_2H_4$  的检测过程。由此可以得出, 探针 ED 在  $N_2H_4$  的检测过程中具有专一选择性, 可用于复杂水

环境中  $N_2H_4$  的痕迹分析。



1~15 分别为  $Mg^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Al^{3+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Ba^{2+}$ 、 $Cr^{3+}$ 、 $Cd^{2+}$ 、 $Cl^-$ 、 $CO_3^{2-}$ 、 $HCO_3^-$ 、 $NO_3^-$ 、 $HSO_3^-$ 、 $N_2H_4$

图 2 不同阴离子对荧光探针 ED 识别性的影响  
Fig. 2 Effect of different ions on identification of fluorescence probe ED

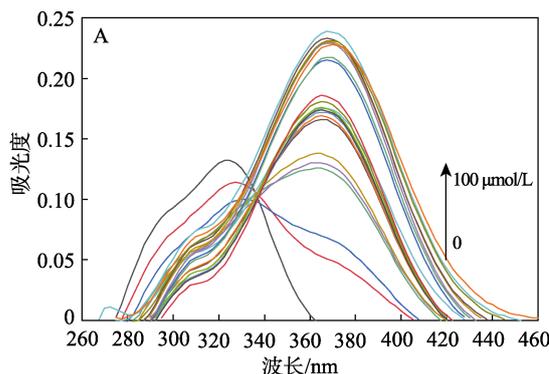


1~12 分别为  $CH_3NH_2$ 、 $C_2H_7N$ 、 $C_2H_8N_2$ 、 $NH_2OH$ 、 $CO(NH_2)_2$ 、 $CH_4N_2S$ 、Cys、GSH、Hcy、Gly、Glu、 $N_2H_4$

图 3 不同氨基化合物对荧光探针 ED 识别性的影响  
Fig. 3 Effect of different amino compounds on identification of fluorescence probe ED

### 2.4 探针对 $N_2H_4$ 检测的灵敏性

为了考察不同浓度的  $N_2H_4$  对探针 ED 的荧光响应情况, 在探针 ED 溶液中加入不同浓度的  $N_2H_4$  (0~100  $\mu mol/L$ ) 测定溶液的紫外-可见吸收光谱和荧光光谱的变化, 结果见图 4。如图 4A 所示, 探针 ED 在 320 nm 处出现明显的紫外吸收峰, 随着  $N_2H_4$  (0~100  $\mu mol/L$ ) 的不断滴入, 探针在 320 nm 处的紫外吸收峰减弱, 而在 367 nm 处的紫外吸收峰增强, 同时探针溶液的颜色由无色变为黄色。



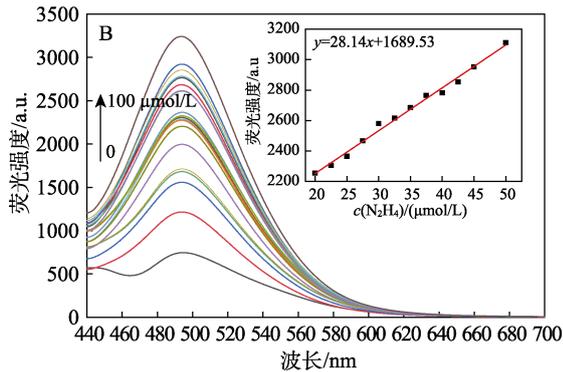


图 4 不同浓度  $N_2H_4$  加入到 ED ( $10 \mu mol/L$ ) 溶液中的 UV-Vis 吸收光谱 (A) 和荧光光谱 (B)  
Fig. 4 UV-Vis spectra (A) and fluorescence spectra (B) of ED ( $10 \mu mol/L$ ) solutions with different  $N_2H_4$  concentrations

由图 4B 可见, 随着  $N_2H_4$  的浓度不断增加, 探针 ED 在 493 nm 处的荧光强度逐渐增加, 溶液荧光颜色由无色变为绿色。在  $N_2H_4$  浓度为 20~50  $\mu mol/L$  的范围内, 荧光强度与  $N_2H_4$  的浓度也呈现较好的线性关系, 线性方程为  $y=28.14x+1689.53$ ,  $R^2=0.9912$ 。根据公式  $LOD=3\sigma/k$  (其中:  $k$  为线性关系斜率;  $\sigma$  为空白实验的标准偏差), 计算得到探针 ED 对  $N_2H_4$  检测极限 (LOD) 为 0.31  $\mu mol/L$ 。

### 2.5 响应时间、pH 对 $N_2H_4$ 检测的影响

检测过程中的响应时间与最适 pH 范围在一定程度上决定了荧光探针的使用价值。为了研究检测过程中最适 pH 范围, 在不同 pH 探针 ED 溶液中滴入 40  $\mu mol/L$  的  $N_2H_4$ , 观察其荧光强度的变化, 结果如图 5A 所示。

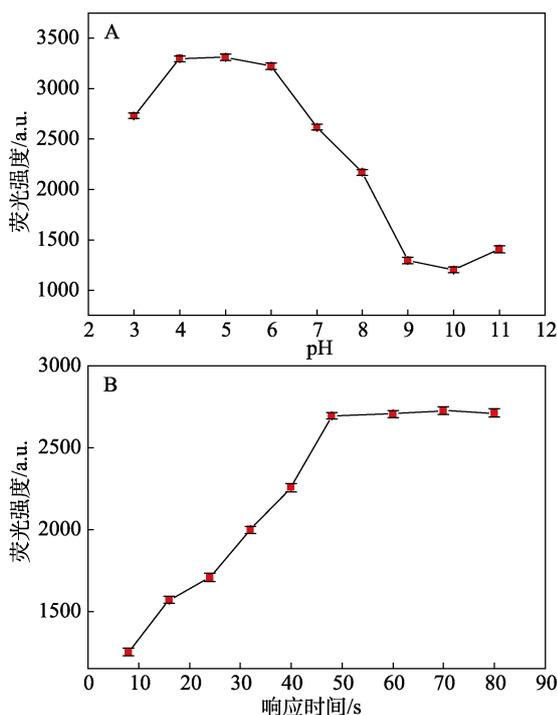


图 5 pH (A)、响应时间 (B) 对探针 ED 荧光强度的影响  
Fig. 5 Effects of pH (A) and response time (B) on fluorescence intensity of probe ED

由图 5A 可以看出, 在 pH 为 3~8 内, 体系均出现明显的荧光发射峰。因此, 探针 ED 可用于 pH 3~8 范围内  $N_2H_4$  的痕量检测。如图 5B 所示, 在探针 ED 溶液中加入  $N_2H_4$  后, 随着时间的推移, 荧光强度不断增加, 在 48 s 后达到稳定, 说明探针 ED 能够实现对溶液中  $N_2H_4$  的快速检测 (48 s)。

### 2.6 探针对 $N_2H_4$ 的检测机理

为了进一步研究探针 ED 对  $N_2H_4$  的识别机理, 对探针 ED+ $N_2H_4$  进行了质谱和  $^1H$ NMR 测试, 结果见图 6。如图 6A 所示,  $m/Z=223.10$  的峰归属于  $[C_{11}H_{14}N_2O_3+H]^+$  (计算值为 223.00)。由图 6B 可见, 氢谱中该探针分子在加入  $N_2H_4$  后, 在  $\delta$  9.0~9.5 之间出现新峰, 归属于吡唑上氢的信号峰。因此, 结合质谱和氢谱分析, 得出探针分子与  $N_2H_4$  的荧光响应机理为: 探针 ED 结构中不饱和酮结构作为识别基团, 与  $N_2H_4$  反应后生成吡唑环结构 (图 7)。

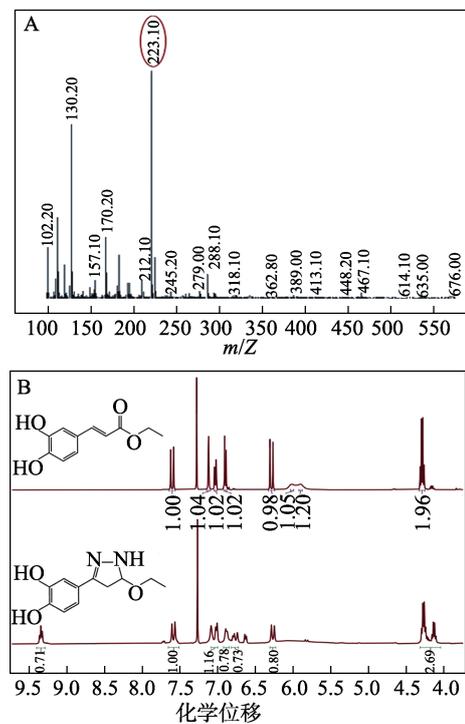


图 6 探针 ED 与  $N_2H_4$  反应后的质谱 (A) 以及探针 ED 加入  $N_2H_4$  前后的  $^1H$ NMR 谱图 (B)  
Fig. 6 MS of probe ED after reaction with  $N_2H_4$  (A) and  $^1H$ NMR spectrum (B) of probe ED with  $N_2H_4$

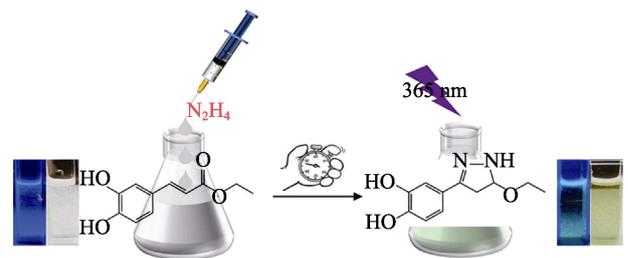


图 7 探针 ED 与  $N_2H_4$  的响应机理示意图  
Fig. 7 Schematic diagram of the response mechanism of probe ED with  $N_2H_4$

## 2.7 应用研究

为了研究探针在实际生活中的应用, 将直径为 4 cm 的圆形滤纸放在 10  $\mu\text{mol/L}$  的探针溶液中浸泡 2 min 后取出, 自然风干后拍照如图 8 所示。可以看出, 随着  $\text{N}_2\text{H}_4$  浓度(70、100、150、300、450、600  $\mu\text{mol/L}$ ) 的增加, 负载 ED 的滤纸的荧光颜色逐渐由蓝色变为蓝绿色, 该试纸可用于水样中微量  $\text{N}_2\text{H}_4$  的检测, 为  $\text{N}_2\text{H}_4$  的便捷、快速检测提供了新的方法。

随后, 将化合物 ED 用于环境水样中  $\text{N}_2\text{H}_4$  的检测, 结果如图 9 所示。可以看出, 在 493 nm 处, 3 种水样溶液的荧光强度与  $\text{N}_2\text{H}_4$  浓度(15、20、25、30、35、40  $\mu\text{mol/L}$ ) 均呈线性关系, 且  $R^2$  值均  $> 0.99$ 。如表 1 所示, 3 种水样的回收率均在 95.2%~104.9% 之间, 回收率较高, 表明化合物 ED 可用于实际水样中  $\text{N}_2\text{H}_4$  的痕量检测。

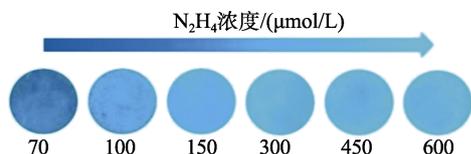


图 8 在 365 nm 紫外灯下, 用不同浓度  $\text{N}_2\text{H}_4$  处理探针 ED 涂层滤纸的照片

Fig. 8 Photos of probe ED coated filter paper treated with different concentrations of  $\text{N}_2\text{H}_4$  under 365 nm UV lamp

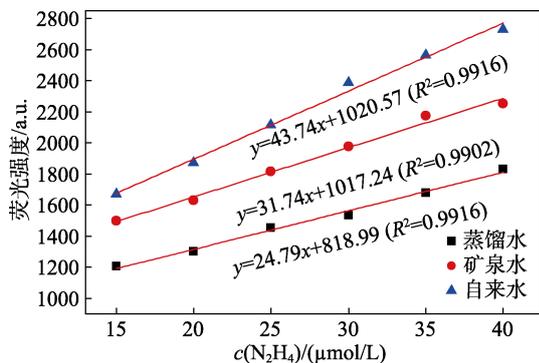


图 9 在实际水样中探针 ED (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 的荧光强度随  $\text{N}_2\text{H}_4$  浓度的变化

Fig. 9 Changes of fluorescence intensity of probe ED (10  $\mu\text{mol/L}$ ) with  $\text{N}_2\text{H}_4$  concentration in an actual water samples

表 1 不同水样中  $\text{N}_2\text{H}_4$  的测定

Table 1 Determination of  $\text{N}_2\text{H}_4$  in different water samples

样品	添加 $\text{N}_2\text{H}_4$ 浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	检测到 $\text{N}_2\text{H}_4$ 浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	回收率/%
蒸馏水	15	15.34	102.3
	18	17.31	96.2
	20	19.04	95.2
	25	25.13	100.5
	30	30.13	100.4
矿泉水	15	14.84	98.9
	18	18.89	104.9
	20	19.93	99.7
	25	25.41	101.6
	30	30.41	101.3
自来水	15	14.78	98.5
	18	18.21	101.2
	20	20.18	100.9
	25	26.06	104.2
	30	31.94	106.5

## 3 结论

以资源丰富的天然提取物咖啡酸为原料, 设计合成了一种基于咖啡酰基结构的新型小分子荧光探针 ED, 探针 ED 可用于特异性识别  $\text{N}_2\text{H}_4$ 。荧光探针具有合成简单、响应时间短(48 s)、选择性高、检测限低(0.31  $\mu\text{mol/L}$ )、pH 适用范围宽(pH 3~8)等特点。通过  $^1\text{H}$ NMR、 $^{13}\text{C}$ NMR 和 HRMS 对探针结构进行表征, 探索探针 ED 对  $\text{N}_2\text{H}_4$  的识别机理。应用研究表明, 基于探针 ED 的试纸可用于水样中  $\text{N}_2\text{H}_4$  的痕迹检测。咖啡酰基有机荧光探针的合成, 不仅拓宽了天然提取物咖啡酸在荧光材料领域的应用, 而且为咖啡酸的深度加工利用提供了重要的理论依据。

## 参考文献:

- XIA X T, ZENG F, ZHANG P S, *et al.* An ICT-based ratiometric fluorescent probe for hydrazine detection and its application in living cells and *in vivo*[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 227: 411-418.
- WANG X C, DING G, HUANG C H, *et al.* A novel triphenylamine-based bis-Schiff bases fluorophores with AIE activity as the hydrazine fluorescence turn-off probes and cell imaging in live cells[J]. *Talanta*, 2020, 217: 121029-121040.
- DING Y, ZHAO S, WANG Q, *et al.* Construction of a coumarin based fluorescent sensing platform for palladium and hydrazine detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 256: 1107-1113.
- CHEN Z, ZHONG X X, WANG B, *et al.* A highly selective HBT-based "turn-on" fluorescent probe for hydrazine detection and its application[J]. *Tetrahedron Letters*, 2017, 58: 2596-2601.
- LIU Y, REN D, YANG X F, *et al.* A fluorescent probe for hydrazine based on a newly developed 1-indanonefused coumarin scaffold[J]. *Dyes and Pigments*, 2019, 162: 112-119.
- ALI F, ANILA H A, TAYE N, *et al.* Specific receptor for hydrazine: Mapping the *in situ* release of hydrazine in live cells and in an *in vitro* enzymatic assay[J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(36): 6166-6169.
- GARROD S, BOLLARD M E, HOLMES E, *et al.* Integrated metabolomic analysis of the multiorgan effects of hydrazine toxicity in the rat[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2005, 18: 115-122.
- LUO Z, LIU B, QIN T, *et al.* Cyclization of chalcone enables ratiometric fluorescence determination of hydrazine with a high selectivity[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 263: 229-236.
- TENG M G, ZHOU Z X, CAO J X, *et al.* A water-soluble fluorescence sensor with high specificity for detecting hydrazine in river water detection and A549 cell imaging[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 311: 127914-127921.
- CUI L, JI C F, PENG Z X, *et al.* Unique tri-output optical probe for specific and ultrasensitive detection of hydrazine[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(9): 4611-4617.
- LI L, LIANG X, XU Y, *et al.* Doxorubicin and indocyanine green loaded hybrid bicelles for fluorescence imaging guided synergistic chemo/photothermal therapy[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2017, 28(9): 2410-2419.
- GU L, ZHENG T, XU Z X, *et al.* A novel bifunctional fluorescent and colorimetric probe for detection of mercury and fluoride ions[J]. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 207: 88-95.
- LENG T, MA Y, CHEN G, *et al.* A novel ratiometric fluorescence and colorimetric probe with a large stokes shift for  $\text{Hg}^{2+}$  sensing[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2018, 353: 143-149.

(下转第 62 页)