

## 洛芬碱衍生物的合成、化学发光与重金属离子检测

李佳禾, 刘俞泽, 马家辉, 佟庆笑, 钟建基\*, 简经鑫\*

汕头大学化学化工学院化学系, 广东 汕头 515063

**摘要:** 化学发光在生物医学分析、环境监测等领域有着重要的应用。本实验设计合成了一种洛芬碱衍生物, 验证其化学发光性质, 并探索其在重金属离子检测方面的应用。在实验过程中, 能综合锻炼学生的有机合成与分离技术、化学发光的动力学和热力学原理的掌握、荧光光谱仪的基本操作, 激励他们开展重金属离子检测等探索性实验。本实验涵盖了有机、分析和环境化学等多学科的基础知识点, 兼具科学性与趣味性, 对培养学生的创新精神具有重要意义。

**关键词:** 洛芬碱; 化学发光; 金属离子检测; 环境检测

**中图分类号:** G64; O6

## Synthesis, Chemiluminescence and Heavy Metal Ion Determinations of a Lophine Derivative

Jia-He Li, Yu-Ze Liu, Jia-Hui Ma, Qing-Xiao Tong, Jian-Ji Zhong\*, Jing-Xin Jian\*

Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Shantou University, Shantou 515063, Guangdong Province, China.

**Abstract:** Chemiluminescence plays a crucial role in biomedical analysis and environmental monitoring. In this study, an experiment is designed to synthesize a derivative of Lofenitine, verify its chemiluminescent properties, and explore its application in the detection of heavy metal ions. This experiment provides a comprehensive training opportunity for students in organic synthesis and separation techniques, as well as the kinetic and thermodynamic principles underlying chemiluminescence. Additionally, it enhances their proficiency in operating fluorescence spectrometers and encourages them to engage in exploratory experiments, such as heavy metal ion detection. The experiment encompasses fundamental concepts from organic, analytical, and environmental chemistry, making it both scientifically rigorous and engaging, thus significantly contributing to the cultivation of students' innovative spirit.

**Key Words:** Lophine; Chemiluminescence; Metal ion determination; Environmental monitoring

### 1 引言

化学反应常伴随着放热或吸热的能量变化, 而在一些特殊的有机反应中, 反应物质能够吸收化学能并产生光辐射, 即化学发光现象<sup>[1]</sup>。其中2,4,5-三苯基咪唑化合物, 俗称洛芬碱(Lophine), 是最早被报道的化学发光试剂<sup>[2]</sup>。洛芬碱在碱性介质中与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>反应产生绿色荧光, 可通过苯基取代调控其共轭离域与能级结构, 改变其衍生物的发光强度和发光颜色<sup>[3]</sup>。在合成方面, 洛芬碱衍生物可以

收稿: 2024-07-22; 录用: 2024-10-14; 网络发表: 2024-12-25

\*通讯作者, Emails: jjzhong@stu.edu.cn (钟建基); jxjian@stu.edu.cn (简经鑫)

基金资助: 广东省自然科学基金(2022A1515110372, 2023A1515011306); 广东省科技创新战略专项资金(pdjh2024b169)

采用以二酮、醛和氨为原料一步合成咪唑骨架，即Debus-Radziszewski (D-R)咪唑反应<sup>[4-6]</sup>。该合成方法操作简单且条件温和，能充分锻炼学生的有机合成与纯化操作能力，符合本科实验教学的需要。

过渡金属离子可以增强Lophine在碱性溶液中与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的化学发光反应，其发光强度、化学发光速率与金属离子浓度存在相关性，从而测定痕量金属离子和其他无机物的浓度<sup>[7-9]</sup>。1979年，Dean F. Marino等<sup>[10]</sup>报道Co<sup>2+</sup>离子可以显著增强Lophine的化学发光。同时期，Allan MacDonald等<sup>[11]</sup>报道了Lophine对检测Co<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Cr<sup>3+</sup>等重金属离子的检测线为 $8 \times 10^{-7}$ 、 $5 \times 10^{-6}$ 和 $5 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，相对标准偏差为2%–4%。截至目前，基于Lophine的化学发光分析法因具有灵敏度高、线性范围宽、分析速度快以及仪器设备相对简单等优点，已广泛应用于环境检测领域<sup>[12]</sup>。

本实验设计合成Lophine衍生物L(图1)并构建检测重金属钴离子的化学发光分析法，涉及有机化学、物理化学、分析化学、环境化学等基础理论知识和实验操作。通过有趣的化学发光现象调动学生的学习兴趣，引导学生树立环保意识，兼具科学性和趣味性。本实验能综合锻炼学生的有机合成与分离技术，让学生掌握荧光光谱仪的基本操作，激励他们开展重金属离子检测等探索性实验，对培养学生的探索精神、创新意识和科学观念具有重要意义。

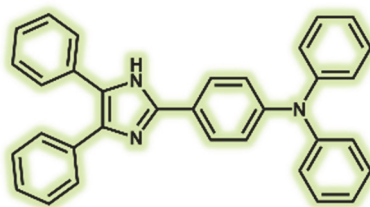


图1 洛芬碱衍生物L的化学结构式

## 2 实验部分

### 2.1 实验原理

#### 2.1.1 咪唑环的合成反应

咪唑环结构通常采用1,2-二羰基化合物、氨和醛进行三组分缩合反应构建(图2)<sup>[4]</sup>。该合成方法以Heinrich Debus<sup>[5]</sup>和Bronisław Leonard Radziszewski<sup>[6]</sup>命名，D-R咪唑合成反应分为两个过程，首先二羰基化合物先和氨(胺)反应形成双亚胺化合物，接着双亚胺化合物再和醛缩合得到产物，其详细的反应机理如图3所示。

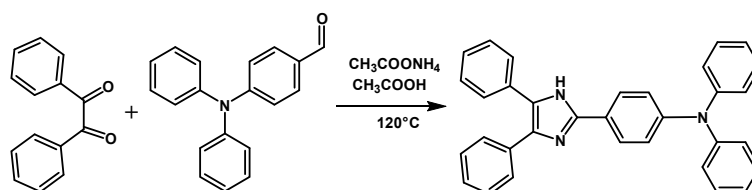


图2 洛芬碱衍生物L的合成路线

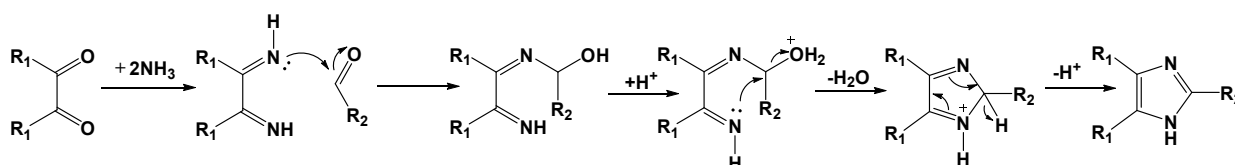


图3 Debus-Radziszewski咪唑反应的机理

### 2.1.2 洛芬碱的化学发光

如图4所示,在碱性介质中,洛芬碱的咪唑结构失去质子并与 $\text{H}_2\text{O}_2$ 反应形成中间体(I),进一步转为含1,2-二氧杂丁烷结构的中间体(II),随后1,2-二氧杂丁烷结构发生分子内分解产生激发单线态的二芳基芳脒盐(III),最终以发射绿光并释放反应的能量形成基态的二芳基芳脒盐(IV)。有趣的是,加入常见的荧光染料或过渡金属离子后,反应体系可以发射不同颜色的光。

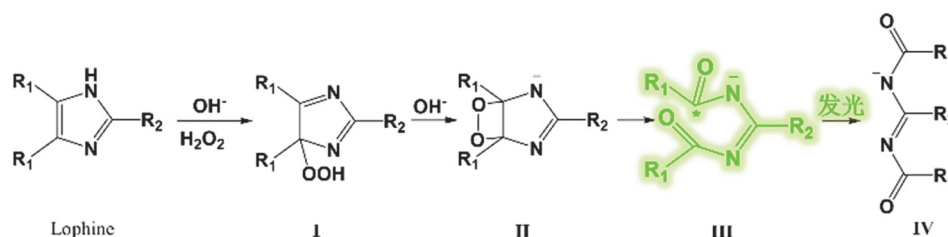


图4 洛芬碱衍生物的化学发光机理

### 2.1.3 化学发光分析法

对于洛芬碱的化学反应:  $\text{Lophine} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{产物} + \text{荧光}$  (简略为:  $\text{L} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{M} + h\nu$ ), 当加入过量发光分子洛芬碱(L)时, 其反应速率与过渡金属离子浓度的关系可表示为:

$$\frac{dc_L}{dt} = k[\text{L}][\text{H}_2\text{O}_2] \quad (1)$$

因此, 解微分方程得:

$$c_L = c_L^0 e^{-kt} \quad (2)$$

洛芬碱的发光强度与待测离子的反应速率成正比, 满足以下关系:

$$I_{cl}(t) = \varphi_{cl} \cdot \frac{dc_L}{dt} \quad (3)$$

将(1)代入(3)得:

$$I_{cl}(t) = -c_L^0 k^2 t e^{-kt} \quad (4)$$

当达到最大发光强度时,  $I_{cl}(t)$  仅与  $c_L^0$  有关且成正比。对于未知浓度的待测离子A, 仅需先向含有发光分子L的溶液中加入不同浓度的含A的溶液测定发光强度绘制出在相同实验条件下的工作曲线, 后再向含有发光分子L的溶液中加入待测溶液, 测定其此时的发光强度再与工作曲线比较, 即可得出待测离子的浓度。注意, 发光分子L的浓度应远大于待测离子A的浓度, 此时反应速率才能近似只与待测离子A的浓度有关。通常情况下发光分子L的浓度不会很高, 因此可对待测离子A进行痕量分析。

## 2.2 试剂或材料

本实验所用试剂与材料如表1所示。

## 2.3 仪器设备

本实验所用实验仪器如表2所示。

## 2.4 实验步骤与方法

### 2.4.1 洛芬碱衍生物的合成与纯化分离

使用分析天平称取1.30 g的4-(二苯氨基)苯甲醛、1.00 g二苯基乙二酮、3.88 g醋酸铵于100 mL三颈圆底烧瓶中, 加入20.0 mL醋酸作为溶剂, 加入搅拌磁子。在烧瓶上口处安装球形冷凝管, 侧口通入氩气, 另一次插入温度计, 使温度计的液泡正好浸没于反应液中。通气15 min后, 冷凝管顶端用橡胶塞密封并用枕头接入一个气球, 关闭侧口通入氩气。依次开启冷凝水、磁力搅拌和加热装置, 保持反应液温度为120 °C, 冷凝回流1 h。

表1 实验试剂与材料

试剂/材料	规格	厂家
4-(二苯基氨基)苯甲醛	AR, ≥ 97%	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
二苯基乙二酮	AR, ≥ 99%	上海沃凯生物技术有限公司
醋酸铵	AR	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
醋酸	AR	天津市大茂化学试剂厂
30%双氧水	AR	天津市光复精细化工研究所
氢氧化钠	AR, ≥ 98%	上海阿拉丁生化科技股份有限公司
氯化钴	AR	天津市大茂化学试剂厂
N,N-二甲基甲酰胺(DMF)	AR	天津市大茂化学试剂厂
氯化铁	AR	天津市大茂化学试剂厂
氯化镍	AR	天津市大茂化学试剂厂
罗丹明B	AR	上海毕得医药科技有限公司
亚甲基蓝	AR	上海毕得医药科技有限公司
亚甲基蓝	AR	上海毕得医药科技有限公司

表2 实验仪器

仪器名称	规格/型号	厂家
集热式恒温加热磁力搅拌器	DF-101S	巩义市英峪仪器厂
电子天平	HZK-JA510	福州华志科学仪器有限公司
紫外-可见分光光度计	UV2800s	上海恒平科学仪器有限公司
荧光分光光度计	F97 Pro	上海棱光科技有限公司

将反应溶液冷却至室温后冰水浴,待固体停止析出后,使用布氏漏斗和抽滤装置收集固体产物,分别采用碳酸氢钠溶液、乙醇冲洗固体3–5次,通过薄层层析方法检验产品的纯度。可通过使用乙醇溶剂加热溶解固体初产物,后冷却结晶以再次提高纯度。

#### 2.4.2 洛芬碱衍生物的化学发光实验

化学发光实验流程如图5所示。取0.20 g洛芬碱衍生物L溶于20.0 mL DMF中,调节溶液pH大于11。取若干洁净的试管或玻璃瓶,编号为A–G,其中A中加入去离子水作为参照,B–G中加入2.0 mL化合物L溶液。C、D、E中加入一定浓度的 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 溶液,F、G中分别滴加罗丹明B或亚甲基蓝溶液。将混合溶液与对比样置于暗处,滴加0.5 mL的30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,观测其化学发光现象。可采用手机延迟拍摄机理实验现象。

#### 2.4.3 洛芬碱衍生物的光学性质和金属离子浓度检测

配制浓度约 $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 洛芬碱衍生物的DMF溶液3–4 mL,通过紫外-可见分光光度计测定其吸收光谱。在确定化合物的最大激发波长下,通过荧光光谱仪测定其荧光光谱。

配制浓度约 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 洛芬碱衍生物的DMF溶液,滴加NaOH调节pH大于11。分别配制 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{FeCl}_3$ 、 $\text{CoCl}_2$ 、 $\text{NiCl}_2$ 溶液。取3.0 mL洛芬碱衍生物溶液于荧光池中,滴加入0.5 mL的30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 溶液,在无激发光源的情况下(使用黑色挡板或关闭光源)测定溶液的化学发光光谱。对比滴加 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 等金属离子后,测定其化学发光光谱,确定最强发光峰的位置。在加入不同浓度的 $\text{Co}^{2+}$ 溶液后,测定其化学发光动力学衰减。

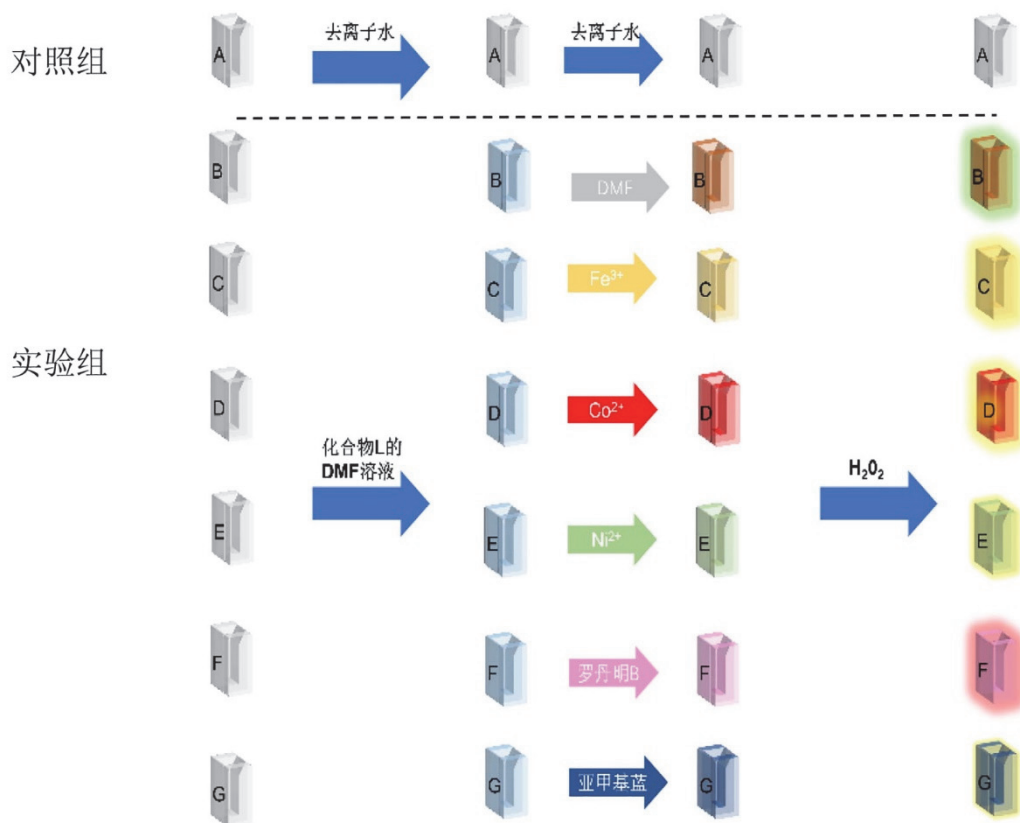


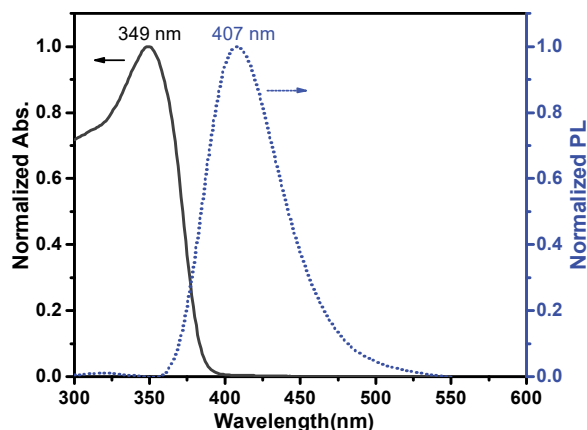
图5 化学发光实验流程图

### 3 结果与讨论

#### 3.1 洛芬碱衍生物L的表征与光学性质

合成的洛芬碱衍生物L为淡黄色晶体，薄层层析确认化合物仅一个点，与标准样品一致。产率约75%，m.p.: 258–259 °C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $d^6$ -DMSO, TMS)  $\delta$ : 7.04 (t,  $J = 8.4$  Hz, 4H), 7.10 (t,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 7.30–7.42 (m, 10H), 7.50 (d,  $J = 7.2$  Hz, 4H), 7.97 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H); MS  $m/z$ : 462.10 ( $M^+ - 1$ ). Anal. Calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{N}_3$ : C 85.50%, H 5.44%, N 9.06%; found C 85.46%, H 5.43%, N 9.11%.

如图6所示，紫外-可见吸收光谱测定洛芬碱衍生物L最大吸收波长峰位于349 nm。在350 nm光源的激发下，其荧光发射峰位于407 nm，为蓝色荧光发射。


 图6 洛芬碱衍生物L的紫外-可见吸收光谱与光致发光光谱，浓度 $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

### 3.2 洛芬碱衍生物的化学发光现象

在洛芬碱衍生物碱性溶液中滴加 $\text{H}_2\text{O}_2$ ，在暗处观察到混合溶液具有绿色发光(图7a)。在对比实验中，分别滴加罗丹明B或亚甲基蓝至浓度约 $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，溶液发光为红色和黄色(图7b、c)。洛芬碱衍生物化学发光可以被荧光染料分子吸收，产生新的荧光发射。

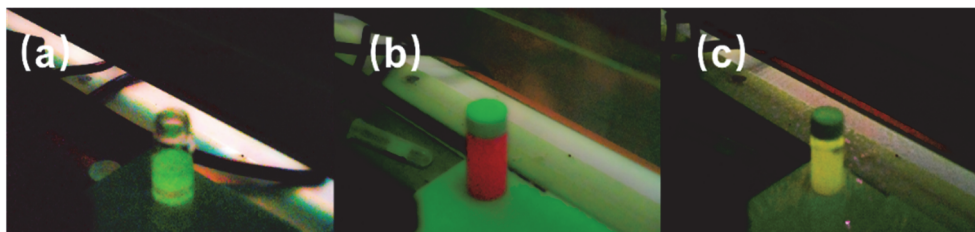


图7 洛芬碱衍生物的化学发光

(a) 无添加; (b) 罗丹明B; (c) 亚甲基蓝

在洛芬碱衍生物碱性溶液中，分别滴加浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 重金属离子溶液至最终离子浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，加入 $\text{H}_2\text{O}_2$ 后于暗处观溶液化学发光，如图8所示。在无激发光源条件下，利用荧光光谱测定各自的化学发光光谱。如图8e所示，当在溶液中分别加入 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 时，发光峰的位置发生了明显的红移(从~490 nm绿光至~550 nm黄光)，与发光实验现象一致。在滴加重金属离子后发光强度增强，其中 $\text{Co}^{2+}$ 对化学发光增强效果最为显著。

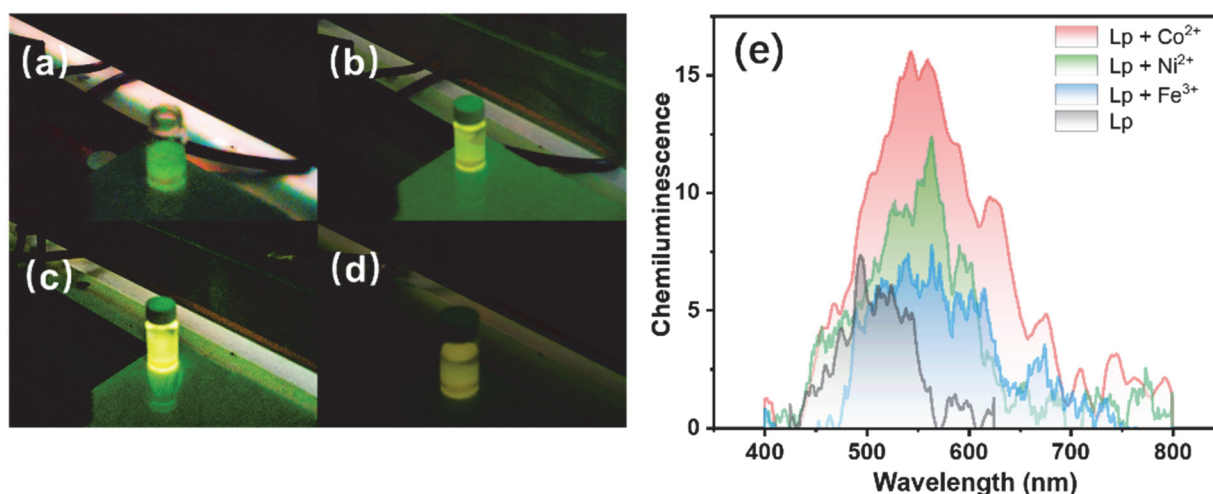


图8 洛芬碱衍生物L(a)在滴加 $\text{Fe}^{3+}$  (b)、 $\text{Co}^{2+}$  (c)、 $\text{Ni}^{2+}$  (d)的化学发光，以及化学发光光谱(e)

### 3.3 比色法检测钴离子浓度

在洛芬碱衍生物L溶液滴加 $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Fe}^{3+}$ 溶液后，溶液颜色迅速由无色变为棕黄色(图9a)，这是因为化合物L的三苯胺官能团可以与 $\text{Fe}^{3+}$ 络合，呈现的显色反应。通过紫外-可见光谱仪，测定化合物L在加入 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 离子后的吸收光谱变化。在差谱图中， $\text{Fe}^{3+}$ 加入后使得溶液最大吸收波长红移，在400 nm处吸收光谱信号显著增强(图9b)。与之对比，加入同等浓度 $\text{Co}^{2+}$ 和 $\text{Ni}^{2+}$ 溶液颜色和吸收光谱的无显著变化，因此可通过溶液比色法检测 $\text{Fe}^{3+}$ 。

### 3.4 化学发光分析法检测钴离子浓度

测定洛芬碱衍生物L与 $\text{H}_2\text{O}_2$ 混合后的化学发光光谱随时间变化。如图10a所示，当刚开始混合时溶液的发光强度最大，随着时间的推移，当混合时间为10 min时发光强度几乎为0，其化学发光动力

学衰减与反应速率相关。在洛芬碱衍生物溶液中分别加入 $1.0 \times 10^{-6}$ 、 $1.0 \times 10^{-5}$ 、 $1.0 \times 10^{-4}$ 和 $1.0 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>的钴离子溶液，测定化学发光的衰减动力学过程(图10b)。随着溶液中Co<sup>2+</sup>的浓度的升高，发光衰减速率逐渐增大，其原因可能是高浓度的Co<sup>2+</sup>会加快H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的分解速率以减少底物L的氧化，从而使处于激发态的L的含量迅速减少，使混合溶液的发光强度迅速降低，这在动力学衰减曲线上展现的为曲线的斜率更大，发光强度更快地降低至0。实验结果与文献报道一致<sup>[10,11]</sup>。

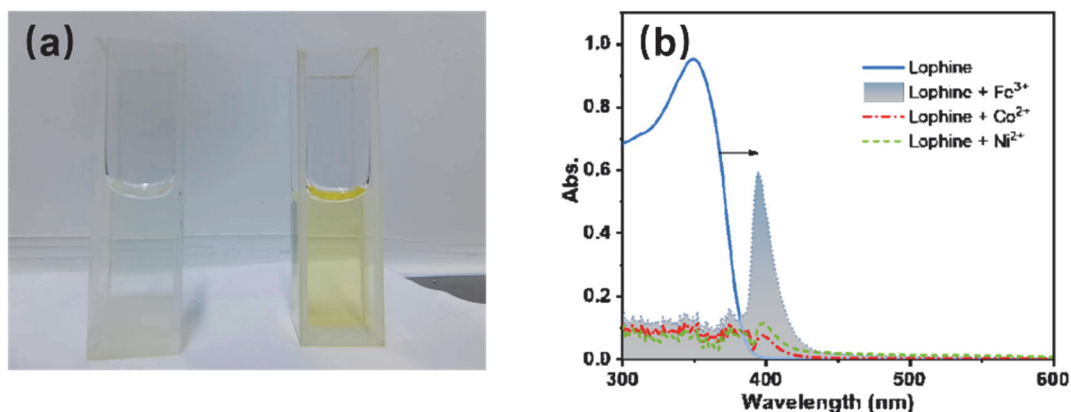


图9 洛芬碱衍生物中加入Fe<sup>3+</sup>后溶液的颜色变化(a)与吸收光谱差谱(b)

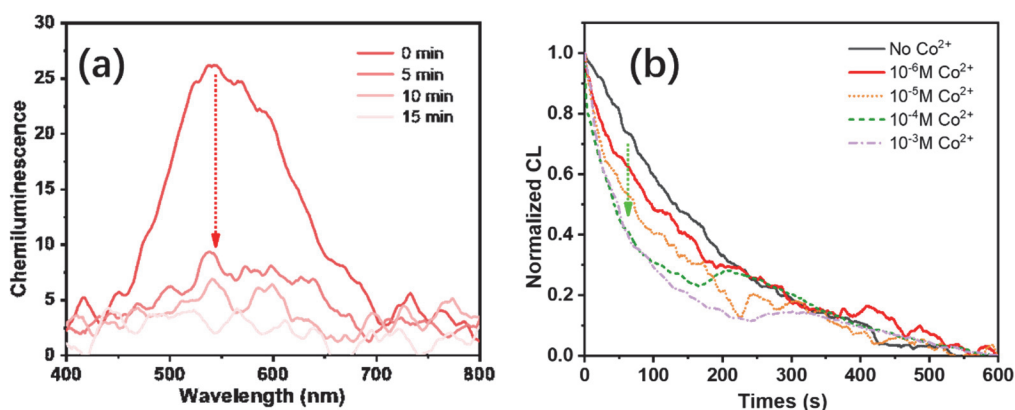


图10 (a) 洛芬碱衍生物化学发光随时间变化; (b) 加入Co<sup>2+</sup>后的化学发光动力学衰减

#### 4 结语

本实验基于有机化学中D-R咪唑合成方法实现了对洛芬碱衍生物L快速合成，通过紫外-可见光吸收光谱与荧光光谱测定了其光学性质。依据化学发光动力学以及光化学与光物理机制，借助分析化学的测试手段实现了洛芬碱衍生物L对溶液中痕量钴(II)离子浓度的测定，这与环境化学中对污染物含量测定的理念相一致。通过该实验可巩固四大化学的基本概念，锻炼了学生的有机实验操作能力，深化了学生的环保与绿色化学理念，是一个兼具教学性、科学性和趣味性的本科生基础化学实验，对培养学生的探索精神、创新意识以及环保理念具有重要意义。

#### 5 特色声明

- (1) 将咪唑衍生物合成与化学发光分析法等科技前沿引入基础教学中;
- (2) 通过宏观发光颜色和亮度变化检测钴离子，体现科学研究的趣味性;
- (3) 现象直观，方便实验教学，能激发学生学习和创作热情。

参 考 文 献

- [1] 陈效兰. 鲁米诺化学发光体系的增强研究及其相关应用[博士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [2] Radziszewski, B. R. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1877**, *10* (1), 70.
- [3] White, E. H.; Harding, M. J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86* (24), 5686.
- [4] Ebel, K.; Koehler, H.; Gamer Jäckh, A. O. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2002.
- [5] Debus, H. *Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Glyoxal* **1858**, *107* (2), 199.
- [6] Radziszewski, B. *Ueber Glyoxalin und seine Homologe* **1882**, *15* (2), 2706.
- [7] 胡玉斐, 赖璐, 李攻科. 大学化学, **2011**, *26* (6), 48.
- [8] 苏彦妮, 吕弋, 张立春. 大学化学, **2023**, *38* (1), 141.
- [9] 马敏娜, 欧阳玉瑾, 邬源, 袁明伟, 杨丽娟. 大学化学, **2024**, *39* (5), 134.
- [10] Marino, D. F.; Wolff, F.; Ingle, J. D. *Anal. Chem.* **1979**, *51* (12), 2051.
- [11] MacDonald, A.; Chain, K. W.; Nieman, T. A. *Anal. Chem.* **1979**, *51* (13), 2077.
- [12] Kang, J.; Shen, J.; Chen, Z.; Nan, J.; Huang, X.; Han, L.; Hao, W. *RSC Adv.* **2015**, *5* (109), 89569.