



中文核心期刊
中国科技核心期刊
《中国科技期刊数据库》来源期刊
《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊
美国《化学文摘》(CA)收录期刊
全国石油和化工期刊100强
全国石油和化工精品期刊40强

ISSN 0258-3283
CN 11-2135/TQ

化学试剂

CHEMICAL REAGENTS

2023年12月 第45卷第12期

国药集团
Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.

IrvineScientific

LGC

Honeywell

CATO
CATO Research Chemicals Inc.

HACH
Be Right™

TCO

TOYOBO

Roche

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Cell Signaling
TECHNOLOGY

Reagent

cytiva

BD

usp
Authorized Distributor

R&D systems
a biotechnie brand

AS ONE

MERCK

3M

SCRC®

SCR
沪试

玻璃

沃凯
ourchem

京试

携手奋进
共筑未来

广告

ISSN 0258-3283



中国石油和化学工业联合会 主管

中国分析测试协会 主办
国药集团化学试剂有限公司
北京国化精试咨询有限公司



化学试剂

CHEMICAL REAGENTS

Vol.45 No.12

December 2023

化学试剂

中文核心期刊

主要栏目

综述与专论
生化与药用试剂
功能材料
分离提取技术
电化学和新能源
化学品与环境
分析与测试
标准物质与标准品
合成与工艺技术



中文核心期刊

中国科技核心期刊

《中国科技期刊数据库》来源期刊

《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

美国化学文摘(CA)收录期刊

全国石油和化工期刊100强

全国石油和化工精品期刊40强

地址: 北京市西城区太平街8号院6号楼107室
投稿网址: <https://hxsj.cbpt.cnki.net>

电话: (010) 58321793, (010) 58321153
E-mail: webmaster@chinareagent.com.cn

1979年4月创刊·月刊

第45卷第12期

总第383期

2023年12月15日出版

主管单位 中国石油和化学工业联合会

主办单位 中国分析测试协会

国药集团化学试剂有限公司

北京国化精试咨询有限公司

出版单位 《化学试剂》编辑部

地址 北京市西城区太平街8号院

6号楼2层107室

邮政编码 100050

联系电话 010-58321793 010-58321723

广告及发行 010-58321153

投稿网址 <https://hxsj.cbpt.enki.net>

E-mail webmaster@chinareagent.com.cn

名誉主编 王夔

主编 何晖

印刷 北京科信印刷有限公司

国内总发行 北京市报刊发行局

邮发代号 2-444

国内订阅处 全国各地邮电局

海外总发行 中国国际图书贸易集团

有限公司

国外代号 M591

连续出版物号 ISSN 0258-3283

CN 11-2135/TQ

广告发布登记 京西工商广登字

20170008号

国内定价 40.00元/本 480.00元/年

化学试剂

HUAXUE SHIJI

目次

· 综述与专论 ·

淫羊藿素的化学合成和结构修饰研究进展
..... 韦纯永,王艳平,王京*,张磊*(1)

3-氨基香豆素衍生的荧光探针
..... 张芮,刘学愚,胡云翔,帅林河,赵玉玲*(9)

磁性石墨烯复合材料的制备及应用研究进展 ... 张阳(18)

· 生化与药用试剂 ·

天花粉粗多糖壳聚糖复合水凝胶促进小鼠皮肤伤口愈合
... 吴燕,寇先勇,王晓姿,刘同,刘馨月,尤祥宇*,苏江涛(26)

· 功能材料 ·

$\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 稀土掺杂上转换纳米材料的制备与条件
优化
..... 殷慧,孟颖,曲超,罗利霞,张凌燕,李淑荣*,孟佩俊*(33)

蒽修饰的四苯乙烯衍生物的合成及发光特性研究
..... 蒋梦忆,李星,李艾强,韩颢*(41)

· 分离提取技术 ·

香紫苏醇发酵液中香紫苏醇的提取与纯化工艺
..... 孙立权*,鄒玉欣,滕茂浩(48)

微波辅助低共熔溶剂优化橘红花柚皮苷提取工艺及其对黄
嘌呤氧化酶抑制活性研究
..... 臧青民,黄雅曼,杨瑞清,王佳蕊,陈咏涓,王则寻,章烨雯*(54)

· 电化学和新能源 ·

花状沸石咪唑骨架用于高效电还原二氧化碳
..... 谷建霞*, 贺敬婷(62)

· 化学品与环境 ·

聚乙烯亚胺改性生物炭对水中甲醛的吸附特性及影响因素
研究 赵苏亚, 刘哲, 王永硕, 吕喜凤, 欧明*(70)

光催化 TiO₂-NaOH 预处理稻秆协同酶法制备葡萄糖研究
... 潘亮, 毕艳红, 迟永洲, 罗思, 袁向阳, 王朝宇*, 赵祥杰(77)

· 分析与测试 ·

埃洛石基分子印迹荧光传感器检测罗丹明 6G
... 王天聪, 李媛媛*, 李皓文, 刘刚, 张铭亮, 相皓浣, 何娟(84)

黄芪中主要成分含量测定及其抗氧化活性研究
..... 孙宇, 陈雪, 唐守祥, 张微, 张海鹏, 单春光, 刘韩*(90)

重铬酸钾滴定法测定水稻土中有机碳
... 刘春霞*, 于亚辉, 李艳华, 张芳, 袁润蕾, 申硕果, 吴娣(98)

· 标准物质与标准品 ·

电解质分析仪用标准物质原料纯度定值研究
... 罗婷婷, 张鹏辉, 张惠, 袁娇阳, 司升玲, 张蒙, 杨嘉伟*(104)

· 合成与工艺技术 ·

新型喹唑啉酮类衍生物的设计、合成与体外抗肿瘤活性
评价 赵灿, 李志, 马晓东*(112)

氨基噻吩取代的 TAE-226 类似物合成与生物活性研究 ...
..... 王庆涛, 饶念, 韦广胜, 徐应, 乐意, 刘力*, 鄢龙家*(118)

* 通讯联系人

《化学试剂》介绍(前插页)·

2024 年《化学试剂》期刊征订单(后插页)·

《化学试剂》第五届编委会

顾 问 何鸣元 林国强 赵玉芬
傅若农 李建华

主 任 王 夔

副主任 柴之芳 王 刚

副主编 (按拼音为序)

方岩雄 姜雪峰 李培武 余远斌
许家喜 张庆合 赵丽娇 赵黎明
郑岳青 朱永法

编 委 (按拼音为序)

褚小立 董庆利 付海燕 顾小焱
何 晖 胡高飞 胡跃飞 黄跟平
黄年玉 黄 挺 纪红兵 蒋少华
金慧子 李春艳 李金花 刘 昉
马 强 牛 佳 庞 欢 彭 羽
邵学广 宋金链 孙继红 孙志鹏
汤 磊 王保金 王德发 王 旭
王昊阳 王晓晨 王玉成 王志刚
肖 雪 徐 丽 徐久振 应志耀
喻小琦 臧慕文 张 磊 张 庆
张国新 张立兵 朱志伟

(本期编辑:彭展南 孟翠苗)

第 45 卷 卷终(附总目次)

中文核心期刊

中国科技核心期刊

《中国科技期刊数据库》来源期刊

《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

美国《化学文摘》(CA)收录期刊

全国石油和化工期刊 100 强

全国石油和化工精品期刊 40 强



《化学试剂》官方微信公众号

CONTENTS

Advance in Chemical Synthesis and Structural Modification of Icaritin	WEI Chun-yong , WANG Yan-ping , WANG Jing* , ZHANG Lei* (1)
Fluorescent Probes Derived from 3-Aminocoumarins	ZHANG Rui , LIU Xue-yu , HU Yun-xiang , SHUAI Lin-he , ZHAO Yu-ling* (9)
Research Progress in the Preparation and Application of Magnetic Graphene Composites	ZHANG Yang (18)
Trichosanthin Polysaccharide Chitosan Composite Hydrogel Promotes Skin Wound Healing in Mice	WU Yan , KOU Xian-yong , WANG Yao-zi , LIU Tong , LIU Xin-yue , YOU Xiang-yu* , SU Jiang-tao (26)
Preparation and Optimization of Rare Earth Doped Upconversion Nanoparticles NaYF ₄ :Yb ³⁺ , Tm ³⁺	YIN Hui , MENG Ying , QU Chao , LUO Li-xia , ZHANG Ling-yan , LI Shu-rong* , MENG Pei-jun* (33)
Synthesis and Emission Property of Anthracene-Dressing Tetraphenylethene	JIANG Meng-yi , LI Xing , LI Ai-qiang , HAN Xie* (41)
Extraction and Purification Process of Sclareol from Sclareol Fermentation Broth	SUN Li-quan* , GAO Yu-xin , TENG Mao-hao (48)
Optimization of Extraction Process of Naringin from <i>Citrus Grandis</i> (L.) Osbeck Flowers by Microwave-Assisted Deep Eutectic Solvents and Inhibitory Activity against xanthine oxidase	ZANG Qing-min , HUANG Ya-man , YANG Rui-qing , WANG Jia-rui , CHEN Yong-juan , WANG Ze-xun , ZHANG Ye-wen* (54)
Efficient Electrocatalytic Reduction of Carbon Dioxide Using Flower-like Zeolite Imidazole Framework	GU Jian-xia* , HE Jing-ting (62)
Study on Adsorption Characteristics and Influencing Factors of Polyethyleneimine Modified Biochar Towards Formaldehyde in Water	ZHAO Su-ya , LIU Zhe , WANG Yong-shuo , LV Xi-feng , OU Ming* (70)
Study on Photocatalytic TiO ₂ -NaOH Pretreatment of Rice Straw for Synergistic Enzymatic Preparation of Glucose	PAN Liang , BI Yan-hong , CHI Yong-zhou , LUO Si , YUAN Xiang-yang , WANG Zhao-yu* , ZHAO Xiang-jie (77)
Detection of Rhodamine 6G by a HNTs-Based Molecularly Imprinted Fluorescence Sensor	WANG Tian-cong , LI Yuan-yuan* , LI Hao-wen , LIU Gang , ZHANG Ming-liang , XIANG Hao-long , HE Juan (84)
Determination of the Main Components of <i>Astragalus Membranaceus</i> and Evaluation of Their Antioxidant Activity	SUN Yu , CHEN Xue , TANG Shou-xiang , ZHANG Wei , ZHANG Hai-peng , SHAN Chun-guang , LIU Han* (90)
Determination of Organic Carbon in Rice Soil by Potassium Dichromate Titration Method	LIU Chun-xia* , YU Ya-hui , LI Yan-hua , ZHANG Fang , RUAN Run-lei , SHEN Shuo-guo , WU Di (98)
Study on Certification of Purity in Reference Materials used for Electrolyte Analyzers	LUO Ting-ting , ZHANG Peng-hui , ZHANG Hui , YUAN Jiao-yang , SI Sheng-ling , ZHANG Meng , YANG Jia-wei* (104)
Novel Quinazolinone Derivatives: The Design, Synthesis and <i>In vitro</i> Antitumor Activity Evaluation	ZHAO Can , LI Zhi , MA Xiao-dong* (112)
Synthesis and Biological Activity of TAE-226 Analogues Substituted with Aminothiophene	WANG Qing-tao , RAO Nian , WEI Guang-sheng , XU Ying , LE Yi , LIU Li* , YAN Long-jia* (118)

Sponsor: China Association for Instrumental Analysis
Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.
Beijing Guohua Jingshi Consulting Co., Ltd.

Editor and Publisher: Chemical Reagents Editorial Board
(F2 , Building No.6 , Yard 8 , Taiping Street ,
Xicheng District , Beijing , China 100050)

Overseas Distributor: China International Books Trading Corporation
P.O.Box 399 , Beijing , China (Code No.M591)

Honorary Editor-in-Chief: WANG Kui

Editor-in-Chief: HE Hui

Phone: (010) 58321793

Website: <https://hxsj.cbpt.cnki.net>

Subscription: Local Post Offices

Costal Distribution Code: 2-444

综述与专论

淫羊藿素的化学合成和结构修饰研究进展

韦纯永^a, 王艳平^b, 王京^{*a}, 张磊^{*a}

(遵义医科大学 a.药学院, b.第一临床学院, 贵州 遵义 563000)

摘要:淫羊藿素是天然淫羊藿属植物主要活性成分淫羊藿苷的苷元,是淫羊藿苷在体内发挥疗效的主要形式,具有多种药理活性。目前,淫羊藿素在中国已上市,主要用于不适合或患者拒绝接受标准治疗,且既往未接受过全身系统性治疗、不可切除的肝细胞癌的治疗。由于天然来源的淫羊藿素含量低,限制了对淫羊藿素的研究。因此,研究人员发展了多种淫羊藿素的化学合成方法。此外,人们还针对淫羊藿素的低生物活性、低水溶性等缺点进行结构修饰,得到了多种活性较好的淫羊藿素衍生物。总结了关于淫羊藿素的化学合成方法及结构修饰的文献报道,期望对淫羊藿素的后续研究提供帮助。

关键词:淫羊藿素;化学合成;结构修饰;衍生物;研究进展

中图分类号:R284 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)12-0001-08

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0478

Advance in Chemical Synthesis and Structural Modification of Icaritin WEI Chun-yong^a, WANG Yan-ping^b, WANG Jing^{*a}, ZHANG Lei^{*a} (a.School of Pharmacy, b.The First Medicine College, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract: Icaritin, an aglycone of icariin, is the main active component of the genus *Epimedium* and the main active form of icariin *in vivo*, which has lots of pharmacological activities. Icaritin has been approved to enter the Chinese market for patients with unresectable hepatocellular carcinoma unsuitable or unwilling to receive standard therapy, and have not previously undergone systemic therapy. Due to the low concentration from natural sources, research on icaritin remains constrained. Therefore, a variety of chemical synthetic methods of icaritin have been developed. In addition, many efforts have been made to address the shortcomings of low biological activity and water solubility of icaritin by structural modifications. Various derivatives of icaritin with better activities have been obtained. This paper provides a comprehensive summary of the literature on chemical synthesis and structural modification of icaritin, with the aim of facilitating further research in this area.

Key words: icaritin; chemical synthesis; structural modification; derivative; research progress

淫羊藿是隶属于小檗科的一种多年生草本植物,约有 52 种,其中有超过 15 种在中医史册中有使用记载^[1],根据现行的 2020 版《中国药典》,其药用部分为淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿或朝鲜淫羊藿的干燥叶,主要功效为补肾阳、强筋骨、祛风湿。随着对淫羊藿属植物研究的不断深入,人们发现其还具有神经保护^[2]、免疫调节^[3]、抗炎^[4]、抗骨质疏松^[5]、抗病毒^[6]、抗衰老^[7]、抗肿瘤^[8]、抗氧化^[9]等药理作用。目前,从淫羊藿属植物中已经分离出黄酮、木脂素、多糖、生物碱、植物甾醇和酚酸等 260 多种成分,其中,黄酮类化合物主要包含淫羊藿苷类、宝藿苷类、朝藿苷类等活性成分^[10,11]。

淫羊藿素 (Icaritin, 1, 图 1) 是淫羊藿属植物活性成分淫羊藿苷 (Icariin, 2, 图 1) 的糖水水解产

物,是一种异戊烯基取代的黄酮醇,具有多种药理活性,如抗肿瘤^[12]、神经保护^[13]、免疫调节^[14]、调节骨代谢^[15]、体内外抗炎^[16]、抗氧化^[17]和选择性雌激素受体的调节活性^[18]等。其中,淫羊藿素的抗肿瘤活性引起了人们的广泛关注。研究表明,淫羊藿素对原发性肝癌有较好抗增殖作用^[19]。淫羊藿素已于 2022 年 1 月由国家药品监督管理

收稿日期:2023-07-15;网络首发日期:2023-10-12

基金项目:黔科合基础项目(ZK[2023]499)。

作者简介:韦纯永(1997-),女,贵州遵义人,硕士生,主要研究方向为药物化学。

通讯作者:王京, E-mail: wangjing@zmu.edu.cn; 张磊, E-mail: lei_chang@yeah.net。

引用本文:韦纯永,王艳平,王京,等.淫羊藿素的化学合成和结构修饰研究进展[J].化学试剂,2023,45(12):1-8。

局批准上市,主要用于晚期肝癌的治疗。

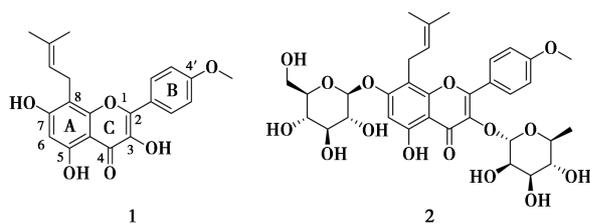


图 1 化合物 1,2 的化学结构

Fig.1 Chemical structures of compounds 1 and 2

淫羊藿素可以通过水解淫羊藿苷得到,但淫羊藿苷在淫羊藿属植物中含量低,且提取过程繁琐,不利于工业化生产。因此,对淫羊藿素的化学合成及结构修饰改造研究具有重要价值。

1 淫羊藿素的半合成方法

淫羊藿素的半合成主要以易得的山奈酚或山奈酚-4'-甲醚为原料。2015 年,Mei 等^[20]以山奈酚为原料,经乙酰化、苄基化、脱乙酰基、甲基醚化、*O*-戊烯化、Claisen 重排和脱保护基合成淫羊藿素,总产率为 25.5%(图 2)。山奈酚的 4'-OH 甲基化、在 NaHCO_3 存在下由 $\text{Eu}(\text{fod})_3$ 催化的 Para-Claisen-Cope 重排是合成的关键步骤。

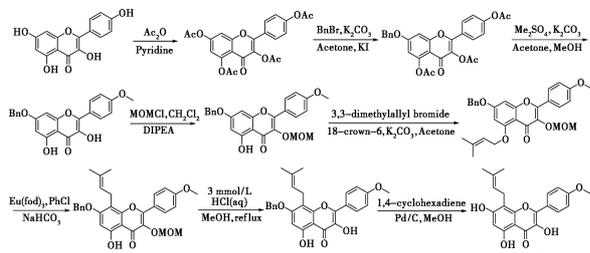


图 2 山奈酚为原料的淫羊藿素合成

Fig.2 Synthesis of icaritin using kaempferol as material

2017 年,孟坤等^[21]以山奈酚-4'-甲醚为原料,利用半合成方法得到淫羊藿素,其特别之处在于利用镧系金属路易斯酸 $\text{Eu}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ 催化重排反应,减少了副产物的产生,得到的淫羊藿素纯度可达 98%,产率超过 30%(图 3)。

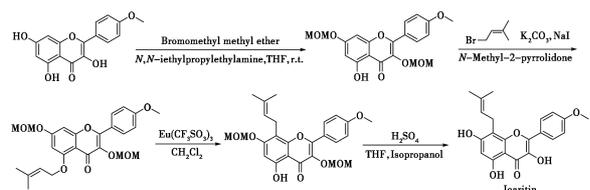


图 3 山奈酚-4'-甲醚为原料的淫羊藿素合成

Fig.3 Synthesis of icaritin using kaempferol 4'-methoxymethyl ether as material

2 淫羊藿素的全合成方法

淫羊藿素是一种异戊烯基取代的黄酮醇,核心结构是黄酮醇骨架及其 8 位取代的异戊烯基,其全合成的关键步骤在于黄酮醇骨架的构建以及将异戊烯基选择性引入到 8 位。

2008 年,李毅林等^[22]以苯甲醇为原料,经过 12 步反应全合成得到淫羊藿素,合成的关键步骤是微波促 Claisen 重排,将黄酮环上的异戊烯基高选择性地引入到 8 位(图 4)。

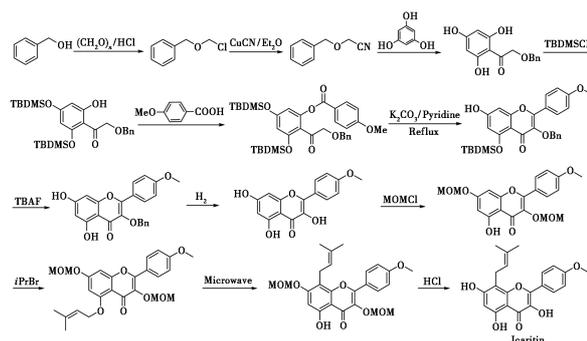


图 4 苯甲醇为起始原料的淫羊藿素全合成

Fig.4 Total synthesis of icaritin using benzyl alcohol as material

采用微波加热可以促进异戊烯基的重排,但在大规模制备中会增加生产成本,不利于工业化生产。2013 年,牟关敏等^[23]以易得的间苯三酚为原料,经过 Houben-Hoesch 反应、一锅法 Algar-Flynn-Oyamada(AFO)反应和钨促异戊烯基重排等 8 步反应实现了淫羊藿素的合成,总产率 4.2%(图 5)。该路线采用一锅法 AFO 反应,避免使用微波促进重排,减少了反应步骤。

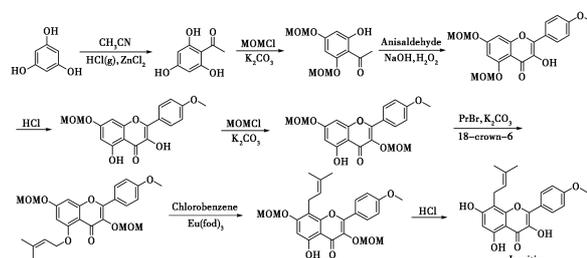


图 5 间苯三酚为起始原料的淫羊藿素全合成

Fig.5 Total synthesis of icaritin using phloroglucinol as material

2014 年,Nguyen 等^[24]以 2,4,6-三羟基苯乙酮和 4-羟基苯甲酸为起始原料,经 Baker-Venkataraman 反应、氧化、氢解、*O*-戊烯化和 Claisen 重排和脱保护基等步骤合成了淫羊藿素,总产率为 23%,微波促 Claisen 重排是合成关键步骤

(图 6)。该方法虽延用了微波促 Claisen 重排策略,但其避免使用钨化合物促异戊烯基重排造成的耗时长、产率低等问题。

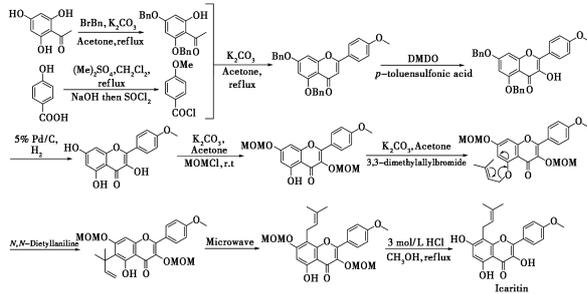


图 6 2,4,6-三羟基苯乙酮为起始原料的淫羊藿素全合成

Fig.6 Total synthesis of icaritin using 2,4,6-trihydroxyacetophenone as material

2019 年, Tong 等^[25]以间苯三酚为原料,采用改进的 Algar-Flynn-Oyamada 环化和接力 Claisen-Cope 重排,经多步高效合成具有 *p*-糖蛋白抑制活性的淫羊藿素和 β -脱水淫羊藿素,该方法为制备淫羊藿素类似物提供了新的思路(图 7)。

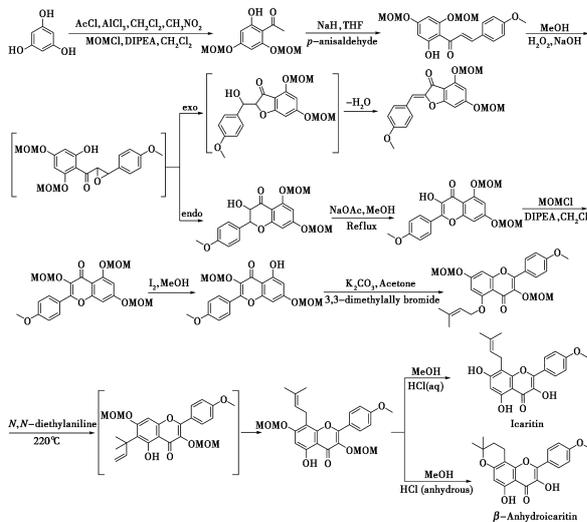


图 7 间苯三酚为起始原料的淫羊藿素和 β -脱水淫羊藿素全合成

Fig.7 Total synthesis of icaritin and β -anhydroicaritin using phloroglucinol as material

以往合成淫羊藿素的主要策略是先构建黄酮醇骨架,再引入异戊烯基。然而,后引进促异戊烯基重排的反应会导致重排副产物的产生,增加分离难度且影响产物纯度。2020 年,张国林等^[26]开发了一种新的淫羊藿素合成策略,该方法以 2',4',6'-三羟基苯乙酮为原料,经过 4 步反应合成得到淫羊藿素。该方法主要采用先引入异戊烯基、后构建黄酮醇骨架的合成策略。在有机多元

酸金属离子配合物的催化下先引入异戊烯基,再构建黄酮醇骨架,经过 4 步反应得到淫羊藿素,该路线具有简单、高效等特点(图 8)。

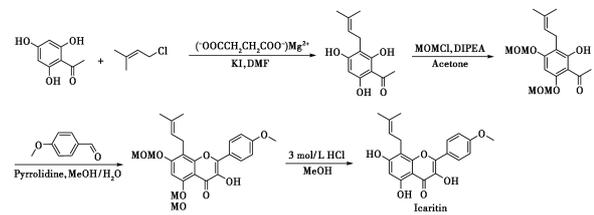


图 8 2',4',6'-三羟基苯乙酮为原料的淫羊藿素全合成

Fig.8 Total synthesis of icaritin using 2',4',6'-trihydroxyacetophenone monohydrate as material

在淫羊藿素的全合成过程中,保护基的选择也至关重要,以往使用的保护试剂主要是 MOMCl,该保护基在反应过程中不易除去。2022 年,隋月波等^[27]报道了一种淫羊藿素合成方法,以 2-(苄氧基)-1-(2,4-双(苄氧基)-6-羟基苯基)乙-1-酮为原料,经过 5 步合成得到淫羊藿素。该方法也是在合成黄酮醇骨架前,先引入异戊烯基,避免重排副产物的产生。此外,该方法还采用易于脱除的苄基作为保护基,有利于淫羊藿素的纯化和工业化生产(图 9)。

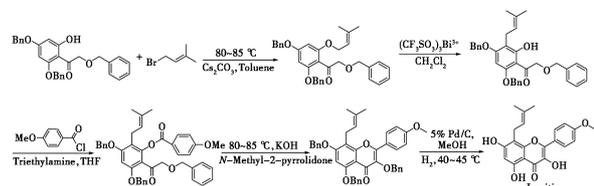


图 9 2-(苄氧基)-1-(2,4-双(苄氧基)-6-羟基苯基)乙-1-酮为原料的淫羊藿素全合成

Fig.9 Total synthesis of icaritin using 2-(benzyloxy)-1-(2,4-bisbenzyloxy-6-hydroxyphenyl)ethanone as material

淫羊藿素具有广泛的药理活性,特别是抗肿瘤活性引起了人们的极大关注,但淫羊藿素深入的药理活性以及作用机制还有待进一步研究。基于基础研究和临床应用的迫切需要,开发高效合成淫羊藿素的工业化方法具有重要意义。目前,针对淫羊藿素的化学合成方法有半合成和全合成两种策略,但离工业化制备还有一定的差距,仍需要进一步探索。

3 淫羊藿素的结构修饰

淫羊藿素具有多种药理活性,在临床上具有

较好的应用,但其存在水溶性差、生物活性不强等缺点,降低了淫羊藿素的使用价值。因此,人们基于结构修饰和药效团拼合等原理,对淫羊藿素多个位点进行结构修饰改造,得到多种活性较好的淫羊藿素衍生物。本部分系统地介绍关于淫羊藿素结构修饰的研究进展。

3.1 3 位修饰

淫羊藿素具有治疗骨质疏松和调节骨代谢的作用,2010 年,李毅林等^[28]将左旋精氨酸衍生物引入淫羊藿素的 3 位-OH,合成得到淫羊藿素左旋精氨酸衍生物 3(图 10)。小鼠实验证实,淫羊藿素左旋精氨酸衍生物可以增加切除卵巢模型小鼠的骨密度,且作用效果强于单独使用淫羊藿素和左旋精氨酸,表明二者协同效应增强了衍生物抗骨质疏松以及调节骨代谢的功效。

2019 年,龚琳慧等^[29]通过点击化学将葡萄糖引入淫羊藿素 3 位-OH,得到了淫羊藿素葡萄糖衍生物 4(图 10)。葡萄糖基团的引入提升了淫羊藿素在水、生理盐水和 0.1%吐温-80 中的溶解度。此外,衍生物 4 对 HepG2、SMMC7721 细胞都较淫羊藿素表现出更强的抑制活性,并且正常肝细胞 LO2 在衍生物 4(100 $\mu\text{mol/L}$)作用下有较高的存活率,表明衍生物 4 对正常肝细胞的毒性小。

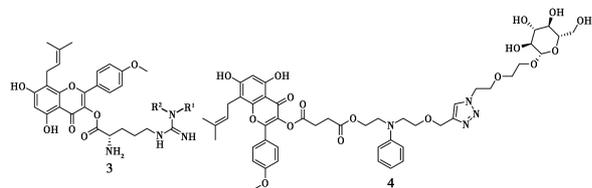


图 10 3 位修饰衍生物化学结构

Fig.10 Chemical structures of derivatives in 3-position

3.2 7 位修饰

2010 年,李毅林等^[30]将具有不同调节骨代谢作用机制的淫羊藿素和 RGD 肽(含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸的短肽)结合,得到了淫羊藿素 RGD 肽衍生物 5(图 11),衍生物同时具备两个结构片段的结合位点。药理实验证明,RGD 肽的引入显著提高了淫羊藿素增强骨密度的作用。

2022 年,Dong 等^[31]对淫羊藿素 7 位-OH 进行结构修饰,基于药效团拼合原理引入抗肿瘤药物去甲斑蝥素结构片段,得到了在体外对 HepG2 和 MCF-7 细胞有较好抑制活性的淫羊藿素去甲斑蝥素衍生物 6(HepG2: $\text{IC}_{50} = 9.72 \mu\text{mol/L}$; MCF-7: $\text{IC}_{50} = 2.68 \mu\text{mol/L}$)(图 11),表明化合物

6 可以作为潜在的抗肿瘤先导物进行研究。

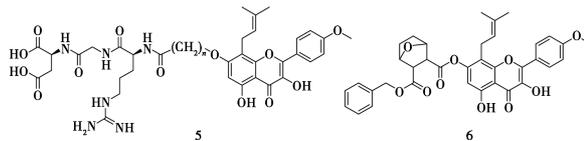


图 11 7 位修饰衍生物化学结构

Fig.11 Chemical structures of derivatives in 7-position

3.3 3,7 位的修饰

2015 年,Wang 等^[32]将羧酸或羧酸酯基团引入淫羊藿素 3 位或 7 位-OH,其中,化合物 7、8(图 12)对 MCF-7、MDA-MB-435s 和 A549 这 3 种癌细胞的体外细胞毒活性高于淫羊藿素。构效关系分析表示,在淫羊藿素的 3、7 位-OH 分别引入极性基团,可以提高细胞毒活性,其中,3 位的修饰具有较好的活性。

2015 年,王晓军等^[33]对淫羊藿素的 3、7 位-OH 进行结构修饰,得到了淫羊藿素衍生物 9、10(图 12)。通过 HPLC 法测定,相较于淫羊藿素,化合物 9、10 在生理盐水中具有较高溶解性。此外,基于大鼠模型的药代动力学测试表明,合成得到的化合物经口服给药后大鼠体内血药浓度及暴露量水平平均提高,半衰期较长,比淫羊藿素具有更好的药代动力学特性。

2017 年,Lin 等^[34]首次报道了淫羊藿素类衍生物的抗菌活性,将抗菌肽小分子片段引入淫羊藿素的 3、7 位-OH,得到含有两个精氨酸基团的化合物 11(图 12)。化合物 11 通过破坏细胞膜,在体内外都对耐药革兰氏阳性菌表现出强大的抑菌活性,作用效果与万古霉素相当。

2019 年,王进欣等^[35]对淫羊藿素的 3、7 位-OH 进行结构修饰,得到了化合物 12(图 12),通过小鼠模型发现衍生物具有缓解抗肿瘤药物环磷酰胺产生的骨髓抑制。

2022 年,刘接卿等^[36]以两种淫羊藿素衍生物作为靶标蛋白配体(POI 配体),以米那度胺和 VHL 型配体(V0)作为 E3 配体,通过脂肪链或 PEG 链将两个配体结合,合成得到了淫羊藿素 PROTACs 分子。通过 CCK-8 法发现,合成的化合物对 CA46 细胞的抗肿瘤活性强于淫羊藿素。然后,对化合物 13(图 12)做了进一步的蛋白质组学分析,确定了 GRIA3 基因位点为淫羊藿素抗肿瘤的潜在靶标。

2023 年,Li 等^[37]以淫羊藿苷为原料,通过选择性水解 3 位或 7 位的糖基,并将含 N 基团引入

水解得到的化合物,合成了 46 个含 N 的淫羊藿素衍生物并评价其对 HCC 细胞的细胞毒活性,其中,化合物 14(图 12)对 Hep3B($IC_{50} = 3.9 \mu\text{mol/L}$)、HepG2($IC_{50} = 7.6 \mu\text{mol/L}$)和 SMMC-7721($IC_{50} = 3.1 \mu\text{mol/L}$)这 3 种细胞都有较强的抑制活性,强于淫羊藿素和索拉菲尼。分子作用机制研究表明,化合物 14 通过阻滞细胞周期在 G0/G1 期并诱导细胞发生凋亡。构效关系研究发现,淫羊藿素 8 位的异戊烯基是抗原发性肝癌的必需基团,7 位-OH 的甲基化或者糖基化都会降低其抗肿瘤活性,3 位-OH 的鼠李糖基化则会提高淫羊藿素的抗肿瘤活性。

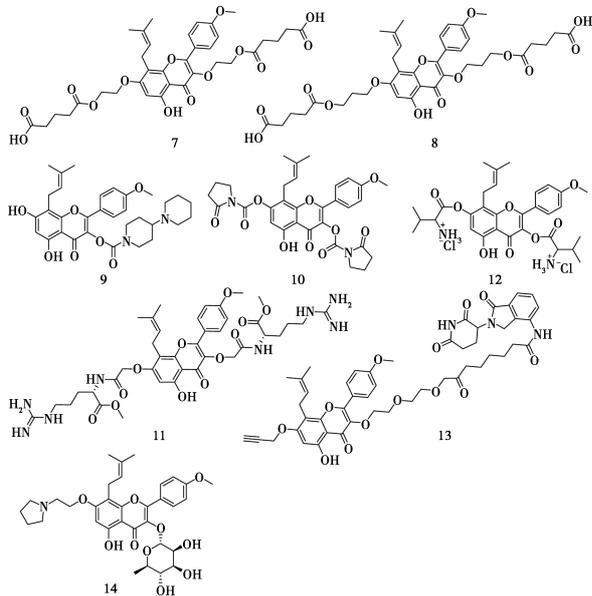


图 12 3、7 位修饰衍生物化学结构

Fig.12 Chemical structures of derivatives in 3,7-positions

3.4 3、5、7 位的修饰

2021 年,石富国等^[38]报道了淫羊藿素甲基化衍生物的合成,在淫羊藿素的 3、5、7 位-OH 引入甲基,得到了衍生物 15~17(图 13),具有更加稳定的药代动力学性质,有望用于阿尔兹海默症的治疗。

2021 年,崔晗琦等^[39]在淫羊藿素 3、7 位-OH 引入甲氧基,随后与不同的烷基化试剂反应,合成

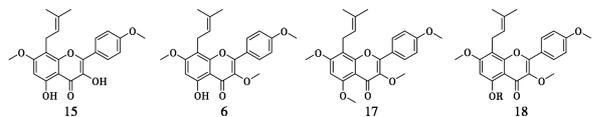


图 13 3、5、7 位修饰衍生物化学结构

Fig.13 Chemical structures of derivatives in 3,5,7-positions

得到了一系列 5-取代淫羊藿素烷基化产物 18(图 13),期望发现具有较好生物活性的淫羊藿素衍生物。

3.5 3、7、8 位的修饰

2008 年, Mario 等^[40]对淫羊藿素的 3、7 位-OH,以及 8 位异戊烯基进行结构修饰,得到了化合物 19 和 20(图 14)。其中,淫羊藿素 3、7 位羟乙基双取代化合物 19 对磷酸二酯酶-5a1 的抑制活性($IC_{50} = 0.074 \mu\text{mol/L}$)与阳性药西地那非($IC_{50} = 0.075 \mu\text{mol/L}$)相当,且对人正常成纤维细胞无细胞毒性。淫羊藿素 8 位异戊烯基与 7 位-OH 环化衍生物 20($IC_{50} = 45.5 \mu\text{mol/L}$)活性显著降低,表明淫羊藿素 8 位异戊烯基片段对磷酸二酯酶-5a1 的抑制活性至关重要。

2009 年, Liu 等^[41]合成一系列淫羊藿素 3、7 和 8 位结构修饰衍生物 21、22(图 14)。机制研究表明,该系列衍生物可以有效地抑制 P-gp 蛋白对抗肿瘤药物的外排功能,增加药物在肿瘤细胞中的积累量,提高抗肿瘤药物治疗效果。构效关系分析发现,淫羊藿素 8 位的异戊烯基和环醚结构是逆转肿瘤多药耐药的关键基团。

2009 年,李祎亮等^[42]对淫羊藿素的 3、7 位-OH 进行烷基化修饰,而后对 8 位的异戊烯基进行水合修饰,得到系列淫羊藿素衍生物(图 14),代表化合物有 23 和 24。药理实验结果表明,衍生物 23($IC_{50} = 1.47 \mu\text{g/mL}$)和 24($IC_{50} = 0.356 \mu\text{g/mL}$)对 A549 细胞的抑制活性与阳性药阿霉素($IC_{50} = 0.79 \mu\text{g/mL}$)相当,但 8 位异戊烯基水合产物没有明显的抗肿瘤活性。

2012 年,蔡志明等^[43]将硫化氢供体与淫羊藿素结合得到了淫羊藿素衍生物 25(图 14)。衍生物可在酶的作用下分解为淫羊藿素以及硫化氢,对治疗勃起功能障碍具有双重治疗作用。

2019 年,刘接卿等^[44]对淫羊藿素进行结构修饰得到了化合物 26(图 14),经药理学实验证明,在相同的浓度下,化合物 26 对脂肪干细胞激活率是淫羊藿素的两倍,表明其促进干细胞的自我更新能力更强,更利于损伤组织的修复。

2019 年,张贵民等^[45]合成了系列新型的淫羊藿素衍生物(图 14),其中衍生物 27 和 28 在小鼠模型表现出可以缓解环磷酸胺产生的骨髓抑制,两个衍生物增加白细胞和血小板总数的作用均强于淫羊藿素。

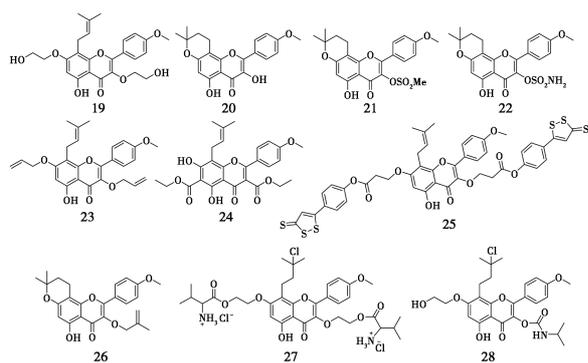


图 14 3、7、8 位修饰衍生物化学结构

Fig.14 Chemical structures of derivatives in 3,7,8-positions

3.6 其他位点的修饰

2008 年,李靖等^[46]报道了一种水合淫羊藿素的制备方法,淫羊藿苷在 3 mol/L 盐酸和纤维素酶的水解作用下得到淫羊藿素,并且,在盐酸水解 3 位的鼠李糖过程中,伴随着 8 位异戊烯基双键的水合作用,即得衍生物 29(图 15)。

2017 年,Nguyen 等^[47]在酸性条件、微波辅助下,以淫羊藿素为原料合成了 β -脱水淫羊藿素,随后,将 Mannich 碱基引入淫羊藿素以及 β -脱水淫羊藿素的 6 位,得到一系列新型淫羊藿素曼尼希碱衍生物,该系列化合物对 Hela、HCC1954 和 SK-OV-3 这 3 种癌细胞的细胞毒活性与阳性药顺铂相当或更强。其中,化合物 30、31(图 15)分别对 HCC1954 和 Hela 细胞具有选择性抑制作用。

2017 年,孟坤等^[48]报道了氟可拉定的合成方法,包括以 2-(4-三氟甲基苯基)-3,5,7-三羟基-4H-苯并吡喃-4-酮为原料,以及由 $\text{Eu}(\text{OTf})_3$ 催化的关键重排,制备得到淫羊藿素 4' 位三氟甲基修饰产物氟可拉定(32,图 15)。

2022 年,Cui 等^[49]开发了一种简单、具有选择性的淫羊藿素烷基化反应,首先对淫羊藿素 7 和 8 位进行环化,3 位-OH 进行甲基化,而后将烷基引入 5 位-OH,得到了一系列 β -脱水淫羊藿素烷基化产物。在体外实验中,化合物 33(图 15)对 HepG2、SW480、A549 和 MCF-7 的细胞增殖抑制效果最好,与阳性药他莫西芬相比,对 MCF-7 细胞具有选择性抑制作用。

2021 年,Hou 等^[50]对淫羊藿素 A 环和 B 环结构进行修饰,引入活性基团,得到了一系列新颖的淫羊藿素衍生物。其中,化合物 34(图 15)对 RPMI 8226 细胞具有显著的细胞毒活性 ($\text{IC}_{50} = 1.09 \mu\text{mol/L}$),且无明显的副作用,是治疗多发

性骨髓瘤的潜在先导化合物。构效关系分析发现,淫羊藿素 2 位苯环基团被取代苯环基团取代时,氯取代基的活性强于甲氧基。此外,氯取代基的位置和个数也会影响抗肿瘤活性。

近期,Cui 等^[51]利用 NBS 催化 β -脱水淫羊藿素和醇的级联反应,以中等产率合成了色酮-3,4-二酮系列淫羊藿素衍生物 35(图 15),衍生物对 HepG2 和 MCF-7 细胞在体外都表现出较好的细胞毒活性,有望成为治疗肝癌和乳腺癌的先导化合物。

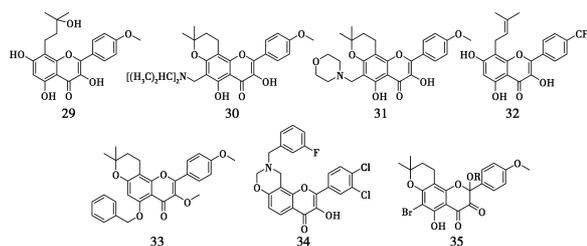


图 15 其他位修饰衍生物化学结构

Fig.15 Chemical structures of derivatives in other positions

4 结论与展望

淫羊藿素具有多种药理活性,如免疫调节、神经保护、骨保护、抗炎和拟雌激素样作用等。然而,淫羊藿素母体结构还存在生物活性弱、水溶性差、生物利用度低等问题。人们通过结构修饰改造,改善其水溶性,提高淫羊藿素的生物活性。淫羊藿素的结构修饰主要集中在 3、5、7 位-OH 以及 8 位异戊烯基,构效关系表明:(1) 3、7 位-OH 引入羧酸、糖基等极性基团,可增加水溶性及生物活性;(2) 引入活性功能基团有利于提高生物活性;(3) 8 位异戊烯基对大多生物活性来说是非必需结构,可进行多种修饰改造。目前,通过结构修饰获得一些具有较好活性的淫羊藿素衍生物,但也面临着一些问题:(1) 大部分淫羊藿素衍生物停留在实验室研究阶段,开展临床试验的化合物较少;(2) 淫羊藿素药理活性作用机制以及靶点不够明确,对结构修饰改造的指导不够精准。本文总结了关于淫羊藿素结构修饰的进展,并进行初步的构效关系分析,期望可以对淫羊藿素后续的修饰改造以及活性研究起到积极的作用。

参考文献:

- [1] MA H P, HE X R, YANG Y, et al. The genus Epimedium: An ethnopharmacological and phytochemical review

- [J]. *J. Ethnopharmacol.*, 2011, **134**(3): 519-541.
- [2] CHEN Y C, ZHENG Q, LU H, et al. Neuroprotective flavonoids from *Epimedium brevicornu* by inhibition of ferroptosis[J]. *Phytochem. Lett.*, 2023, **55**: 80-87.
- [3] 杨艳君, 李畅, 陈菲菲, 等. 淫羊藿多糖组成分析及其免疫调节作用研究[J]. 中国中药杂志, 2022, **47**(16): 4 358-4 364.
- [4] GAO Y, SHI W, TU C, et al. Immunostimulatory activity and structure-activity relationship of epimedin B from *Epimedium brevicornu* Maxim [J]. *Front. Pharmacol.*, 2022, **13**: 1 015 846.
- [5] ZHAO Y D, ZHANG X, YANG W Y, et al. New anti-pulmonary fibrosis prenylflavonoid glycosides from *Epimedium koreanum* [J]. *Chin. J. Nat. Med.*, 2022, **20**(3): 221-228.
- [6] CHO W K, MA J Y. Antiviral activity of *Epimedium koreanum* Nakai water extract against influenza viruses [J]. *Biomed. Pharmacother.*, 2022, **146**: 112 581.
- [7] WU B, XIAO X, LI S S, et al. Transcriptomics and metabolomics of the anti-aging properties of total flavones of *Epimedium* in relation to lipid metabolism [J]. *J. Ethnopharmacol.*, 2019, **229**: 73-80.
- [8] CHENG P, YUKIO F, HASITA H, et al. Flavonoid compounds contained in *Epimedium herba* inhibit tumor progression by suppressing STAT3 activation in the tumor microenvironment [J]. *Front. Pharmacol.*, 2020, **11**: 262.
- [9] 李波, 李珺铭, 刘富饶, 等. 朝鲜淫羊藿中性多糖与酸性多糖的理化特征及抗氧化活性的比较 [J]. 化学试剂, 2022, **44**(3): 369-375.
- [10] WU H, LIEN E J, LIEN L L, et al. Chemical and pharmacological investigations of *Epimedium* species: A survey [J]. *Prog. Drug Res.*, 2003, **60**: 1-57.
- [11] ZHANG H M, WANG H, WEI J, et al. Comparison of the active compositions between raw and processed *epimedium* from different species [J]. *Molecules*, 2018, **23**(7): 1 656.
- [12] RONG Y, TU Y F, YIN T J, et al. Rapid intestinal glucuronidation and hepatic glucuronide recycling contributes significantly to the enterohepatic circulation of icaritin and its glucuronides *in vivo* [J]. *Arch. Toxicol.*, 2020, **94**(11): 3 737-3 749.
- [13] XU Y Y, LU X Y, ZHANG L, et al. Icaritin activates Nrf2/Keap1 signaling to protect neuronal cells from oxidative stress [J]. *Chem. Biol. Drug Des.*, 2021, **97**(1): 111-120.
- [14] TAO H M, LIU M Y, WANG Y, et al. Icaritin induces anti-tumor immune responses in hepatocellular carcinoma by inhibiting splenic Myeloid-derived suppressor cell generation [J]. *Front. Immunol.*, 2021, **12**: 609 295.
- [15] WEI Q S, WANG B, HU H L, et al. Icaritin promotes the osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via the regulation of sclerostin expression [J]. *Int. J. Mol. Med.*, 2020, **45**(3): 816-824.
- [16] HUANG F Y, ZHANG Y D, XU Y F, et al. Analgesic, anti-inflammatory and sedative/hypnotic effects of Icaritin, and its effect on chloride influx in mouse brain cortical cells [J]. *Cell. Mol. Biol.*, 2019, **65**(7): 99-104.
- [17] SONG Y H, CAI H, ZHAO Z M, et al. Icaritin attenuated oxidative stress induced-cardiac apoptosis by mitochondria protection and ERK activation [J]. *Biomed. Pharmacother.*, 2016, **83**: 1 089-1 094.
- [18] TIONG C T, CHEN C, ZHANG S J, et al. A novel prenylflavone restricts breast cancer cell growth through AhR-mediated destabilization of ER α protein [J]. *Carcinogenesis*, 2012, **33**(5): 1 089-1 097.
- [19] LI K X, XIAO K M, ZHU S, et al. Chinese herbal medicine for primary liver cancer therapy: Perspectives and challenges [J]. *Front. Pharmacol.*, 2022, **13**: 889 799.
- [20] MEI Q G, WANG C, ZHAO Z G, et al. Synthesis of icaritin from kaempferol through regioselective methylation and para-Claisen-Cope rearrangement [J]. *Beilstein J. Org. Chem.*, 2015, **11**: 1 220-1 225.
- [21] 孟坤, 方芳, 张彦重, 等. 一种淫羊藿素的合成方法: 201 710 565 481.4 [P]. 2017-09-15.
- [22] 李毅林, 朱轶才, 张洁, 等. 一种天然产物淫羊藿苷类化合物的全合成方法: 200 610 165 354.7 [P]. 2008-06-25.
- [23] 牟关敏, 蒲文臣, 周敏, 等. 淫羊藿素的合成 [J]. 有机化学, 2013, **33**(6): 1 298-1 303.
- [24] NGUYEN V S, SHI L, LI Y, et al. Total synthesis of icaritin via microwave-assistance claisen rearrangement [J]. *Lett. Org. Chem.*, 2014, **11**: 677-681.
- [25] TONG J, LIU C, WANG B. Improved synthesis of icaritin and total synthesis of β -anhydroicaritin [J]. *Chem. Res. Chin. Univ.*, 2019, **35**(4): 616-620.
- [26] 张国林, 王淳, 熊伟, 等. 一种简便高效的淫羊藿素及其衍生物的全合成方法: 201 910 939 978.7 [P]. 2020-01-14.
- [27] 隋月波, 王本利. 一种脱水淫羊藿素中间体化合物: 202 011 334 477.5 [P]. 2022-05-27.
- [28] 李毅林, 朱轶才, 张洁, 等. 一种左旋精氨酸衍生物淫羊藿黄酮结合物及其制备方法: 201 010 003 415.6 [P]. 2010-09-22.
- [29] 龚琳慧, 宿冬远, 顾健, 等. 淫羊藿素衍生物的合成及其体外抗肝癌活性研究 [J]. 中药材, 2019, **42**(5): 1054-1058.

- [30] 李毅林, 朱轶才, 张洁. 一种 RDG 肽-淫羊藿黄酮结合物、及其制备方法和应用; 201 010 194 808. X [P]. 2010-12-29.
- [31] DONG W W, WANG X H, QIAN S, et al. Regio-selective synthesis and activity research on 7-icariitin norcantharidin conjugates [J]. *Nat. Prod. Res.*, 2022, DOI: 10.1080/14786419.2022.2121828.
- [32] WANG C, WU P, SHI J F, et al. Synthesis and cancer cell growth inhibitory activity of icaritin derivatives [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **100**: 139-150.
- [33] 王晓军, 周平健, 阳传文, 等. 淫羊藿苷类化合物及其应用; 201 410 586 824.1 [P]. 2015-03-04.
- [34] LIN S M, KOH J J, AUNG T T, et al. Semisynthetic flavone-derived antimicrobials with therapeutic potential against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. *J. Med. Chem.*, 2017, **60**: 6 152-6 165.
- [35] 王进欣, 关永霞, 齐长鹏. 一种淫羊藿苷元衍生物及其制备方法和用途; 201 810 253 229.4 [P]. 2019-10-22.
- [36] 刘接卿, 李婕, 张佩玺, 等. 淫羊藿素 PROTACs 及其制备方法和应用; 202 210 546 723.6 [P]. 2022-08-12.
- [37] LI J C, SHEN S, LIU Z J, et al. Synthesis and structure-activity analysis of icaritin derivatives as potential tumor growth inhibitors of hepatocellular carcinoma cells [J]. *J. Nat. Prod.*, 2023, **86**: 290-306.
- [38] 石富国, 杨锋, 潘虹. 一种淫羊藿素甲基化结构修饰化合物及其制备方法和应用; 202 110 006 593.2 [P]. 2021-02-19.
- [39] 崔晗琦, 赵长阔, 董维维, 等. 选择性烷基化合成 5-取代的淫羊藿素衍生物 [J]. *遵义医科大学学报*, 2021, **44**(2): 183-187.
- [40] MARIO D A, GERMANA V G, ESTHER D C, et al. Potent inhibition of human phosphodiesterase-5 by icariitin derivatives [J]. *J. Nat. Prod.*, 2008, **71**: 1 513-1 517.
- [41] LIU D F, LI Y P, OU T M, et al. Synthesis and antimulti-drug resistance evaluation of icariitin and its derivatives [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**: 4 237-4 240.
- [42] 李祎亮, 石玉, 刘巍, 等. 3,5,7-三羟基黄酮类衍生物、其制备方法和用途; 200 810 053 272.2 [P]. 2009-12-02.
- [43] 蔡志明, 卞劲松, 吴海霞. S-淫羊藿素化合物、合成方法及用途; 201 110 258 374. X [P]. 2012-04-18.
- [44] 刘接卿, 林倩玉, 辛华, 等. 一类黄酮衍生物及其制备方法和医药用途; 201 910 406 930. X [P]. 2019-08-27.
- [45] 张贵民, 黄文波, 杨德亮, 等. 一种淫羊藿苷元衍生物及其制备方法和用途; 201 810 253 109.4 [P]. 2019-10-22.
- [46] 李靖, 孟坤. 水合淫羊藿素的制备方法; 200 710 179 673.8 [P]. 2008-06-18.
- [47] NGUYEN V S, SHI L, WANG S C, et al. Synthesis of icaritin and β -anhydroicaritin Mannich base derivatives and their cytotoxic activities on three human cancer cell lines [J]. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, 2017, **17**: 137-142.
- [48] 孟坤, 张彦重, 方芳, 等. 氟可拉定的合成方法; 201 710 565 817.7 [P]. 2017-07-12.
- [49] CUI H Q, WANG X H, ZHAO C K, et al. Selective alkylation of β -anhydroicaritin and their biological evaluation on anticancer [J]. *Nat. Prod. Res.*, 2022, **36**(8): 2 032-2 036.
- [50] HOU Y, KUANG W B, MIN W J, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of icaritin derivatives as novel putative DEPTOR inhibitors for multiple myeloma treatment [J]. *J. Med. Chem.*, 2021, **64**: 14 942-14 954.
- [51] CUI H Q, WANG X H, QIAN S, et al. NBS promoted cascade reaction of β -anhydroicaritin and alcohols [J]. *Green Chem. Lett. Rev.*, 2023, **16**: 2 148 836.

3-氨基香豆素衍生的荧光探针

张芮¹, 刘学愚², 胡云翔², 帅林河², 赵玉玲^{*3}

(1. 兰州大学 生命科学学院 生物化学与分子生物学研究所, 甘肃 兰州 730000;

2. 杭州鑫富科技有限公司, 浙江 杭州 311305; 3. 兰州交通大学 化学化工学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 香豆素是常用的荧光生色团, 在发展新型高效的荧光探针中有重要应用。3-氨基香豆素是一种 α, β -脱氢氨基酸内酯, 为其发展成为有多种生物活性与其他功能分子提供了独特的结构基础。迄今为止, 以 3-氨基香豆素为原料发展了一系列荧光探针分子, 快速检测金属离子和生物分子。综述了以 3-氨基香豆素为原料发展的一系列新的荧光探针, 这些探针主要用于选择性地高效探测 Hg^{2+} 、 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Cu^+ 、 Pd^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cr^{2+} 等多种金属离子、硫离子、半胱氨酸和 β -巯基乙醇等生物硫醇、 H_2O_2 和活性蛋白质。

关键词: 荧光探针; 3-氨基香豆素; 金属离子; 生物硫醇; 活性蛋白质

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0009-09

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0470

Fluorescent Probes Derived from 3-Aminocoumarins ZHANG Rui¹, LIU Xue-yu², HU Yun-xiang², SHUAI Lin-he², ZHAO Yu-ling^{*3} (1. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Hangzhou Xinfu Science & Technology Limited Corporation, Hangzhou 311305, China; 3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Coumarin is a commonly used fluorescent chromophore, which has been applied in the development of novel and efficient fluorescent probes. 3-Aminocoumarin is an α, β -dehydroamino acid lactone, whose unique structure provides a strong basis for this compound to be developed into versatile molecules with biological activities and other diverse functions. A number of fluorescent probes have been developed using 3-aminocoumarins for the rapid determination of metal ions and biomolecules. This article reviews the literatures involving these novel fluorescent probes developed from 3-aminocoumarin applied in the selective detection of metal ions (Hg^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Cu^+ , Pd^{2+} , Zn^{2+} and Cr^{2+}), sulfur ions, Cys, β -mercaptoethanol and so on, H_2O_2 , and active proteins.

Key words: fluorescent; 3-aminocoumarin; metal ions; biothiols; active protein

根据目标化合物已知的物理、化学和生物学特征有针对性地设计荧光探针, 通过选择性地荧光显示技术来定性和定量分析目标化合物, 通过分析生物分子来实时揭示其生物活性, 这种检测方法灵敏度高、快速、不需要昂贵的仪器设备, 是当前生物分子分析和检测的重要手段^[1-4]。香豆素化合物容易合成和衍生, 结构稳定, 是使用非常广泛的荧光发色团, 有许多依赖于香豆素骨架的发光材料和荧光探针分子被开发出来^[5-9]。3-氨基香豆素是一种 α, β -脱氢氨基酸内酯型香豆素, 已经发现, 3-氨基香豆素衍生物的多种生物活性^[10-12]。围绕 3-氨基香豆素发展了许多的“turn-on”型荧光探针用于经济、高效、可视化检测金属离子、硫离子、活性氧、生物硫醇以及含硫醇的蛋白质(图 1)。尽管基于香豆素衍生物荧光探针的报道已经有许多综述, 但是迄今为止, 尚无基于 3-氨基香豆素荧光探针报道的综述。本文综述了以 3-氨基香豆素为原料发展的荧光探针及其应用的报道。

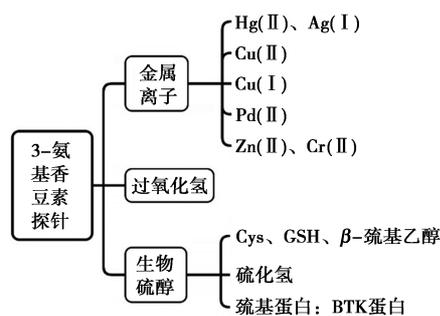


图 1 基于 3-氨基香豆素衍生的荧光探针

Fig.1 Fluorescent probes derived from 3-aminocoumarin

收稿日期: 2023-07-12; 网络首发日期: 2023-10-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51563014)。

作者简介: 张芮(1997-), 女, 甘肃武威人, 硕士生, 主要研究方向为 α, β -脱氢氨基酸内酯合成与应用。

通讯作者: 赵玉玲, E-mail: zhaoyuling@mail.lzjtu.cn。

引用本文: 张芮, 刘学愚, 胡云翔, 等. 3-氨基香豆素衍生的荧光探针[J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 9-17。

1 检测金属离子的荧光探针

当机体或细胞长时间处于金属离子胁迫或高浓度金属离子接触,尤其是过渡金属离子接触,就会对机体和细胞造成伤害。因此,不借助于昂贵的仪器设备,能够快速、经济、可视化地检测出环境、细胞和人体中的金属离子特别是重金属离子,是荧光探针研究的一个重要内容^[13,14]。以 3-氨基香豆素为原料,也成功发展出了系列的荧光探针。

1.1 检测 Hg^{2+} 和 Ag^+ 的荧光探针

Hg^{2+} 是现实环境中积累较多的一种重金属离子。体内积累 Hg^{2+} 和 Ag^+ 都会威胁人体健康,导致人体大脑损伤和某些慢性疾病,检测这两种金属离子具有重要的意义^[15]。Tsukamoto 等^[16] 基于分子间反应的脱硫原理,以 3-氨基-7-羟基香豆素为原料开发了一种带有 N-乙酰硫脲基团的香豆素生物探针 1,该探针可以快速地、高选择性地检测出 Hg^{2+} 和 Ag^+ ,硫脲的 N—H 和酰基 O 原子之间形成的分子内氢键显著增加了探针对 Hg^{2+} 和 Ag^+ 的敏感性。分子内氢键通过氢转移促进了金属离子与 S 原子成键,中间体 1-I 快速水解得到脱硫的 N-乙酰基脲香豆素探针 2 和金属硫化物(图 2)。在信噪比为 3 时,该荧光探针对于 Hg^{2+} 和 Ag^+ 的检测限分别达 2 和 1 $\mu\text{g/L}$ 。由于 Li^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 等金属离子不能与探针 1 作用发生脱硫反应,因此它们不能干扰探针对 Hg^{2+} 和 Ag^+ 的检测。该探针还可以耐受广泛的 pH 范围,溶液中混合高浓度的 DMSO 也不影响其探测活性。同时,当在 pH 3.0 的缓冲液或含 100 mmol/L NaCl 的 pH 7.0 的缓冲液中,探针的性能从双离子检测性能转变为特异性检测 Hg^{2+} 的单一模式。

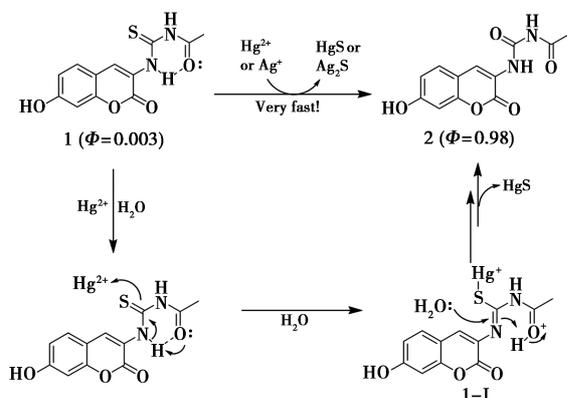


图 2 由脱硫化过程高效检测 Ag^+ 和 Hg^{2+} 的探针

Fig.2 Effective probes for Hg^{2+} or Ag^+ from desulfurization

1.2 检测 Cu^{2+} 的荧光探针

高浓度 Cu^{2+} 能引起胃肠道不适,损害肝肾功能。细胞稳态下,铜浓度的变化与严重神经退行性疾病也息息相关^[17]。建立一种快捷准确的方法检测环境和生物样品的铜浓度至关重要,围绕 Cu^{2+} 探测也成功开发出了系列的荧光探针^[18]。基于荧光增强机理,Ghosh 等^[19] 分别用 3-氨基香豆素和 6-氨基香豆素很便捷地合成了双香豆素铜离子探针 3 和 4(图 3)。双香豆素探针 3 能够不受其他金属离子的干扰,对铜离子具有较高的敏感性和选择性。一般来说,荧光素与 Cu^{2+} 耦合后会诱发荧光强度降低或消失,但是基于 3-氨基香豆素合成的荧光探针 3,在含微量 DMSO 的乙腈溶液中与 Cu^{2+} 耦合后,在波长 400 nm 处发光峰的荧光强度由配合前的不足 400 增加到配合后的 650 以上。与之相反,探针 4 与 Cu^{2+} 配合后,其在 445 nm 处发光峰的荧光强度由配合前的约 240 下降到不可测量的程度。之所以出现这种现象,主要是在双香豆素探针 3 中, Cu^{2+} 与探针的酰胺 N 原子和香豆素的羰基-O 原子形成了 4 个配位键,这样一种配合结构极大地降低了双香豆素构象的柔韧性和可变性,这样由于 Cu^{2+} 的配合,使溶液荧光强度增加,很容易检测出来。

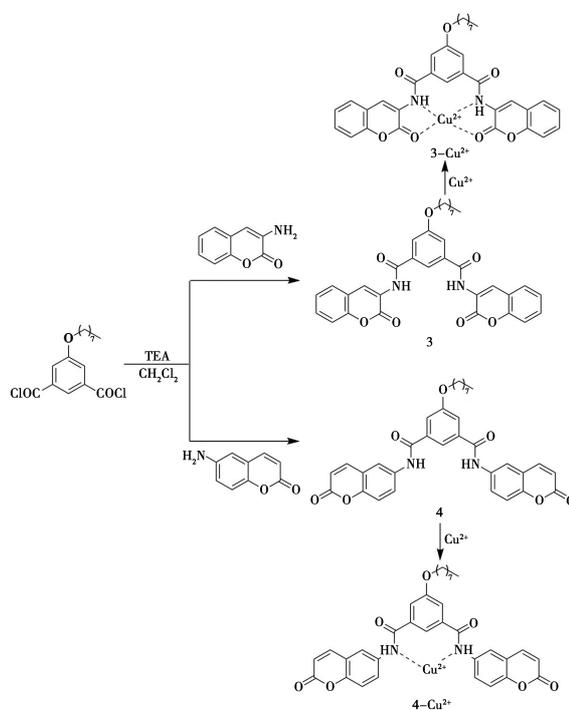


图 3 双香豆素 Cu^{2+} 探针

Fig.3 Biscoumarin-based probes for Cu^{2+}

1.3 检测 Cu^+ 的荧光探针

Cu^{2+} 和 Cu^+ 是细胞中非常常见的铜元素的两

种氧化态的表现,除参与氧化还原反应之外,还与酶蛋白配合形成金属酶参与催化其他多种代谢反应^[20]。但是当铜的含量超过一定限度时,就由有益金属变成有害的金属,因此实时监控细胞中铜的含量非常重要。有关 Cu²⁺ 的荧光探针报道较多,而关于 Cu⁺ 的探针则比较罕见^[21]。相当一部分的金属荧光探针都是基于荧光强度的变化,这种探针不太适合于在复杂环境中选择性探测单一的金属离子。而使用荧光比率法就能够较好地避免这一局限性。正是基于荧光比率法这一优点, Yu 等^[22] 用发蓝绿色荧光的 3-(N-乙酰胺基)-7-羟基香豆素探针 5 为原料合成了发紫色荧光的、含三吡啶甲基氨基修饰的 3-(N-乙酰胺基)-7-羟基香豆素探针 6 (图 4)。在含 2 mmol/L 谷胱甘肽的 pH 7.2 的 PBS 缓冲溶液中,香豆素探针 6 与 Cu⁺ 螯合后在氧分子与水分子的作用下,链接 N,N,N-三吡啶甲基氨基与 3-氨基香豆素的氧桥断裂,释放出原料分子探针 5, 荧光由紫色转变成了蓝绿色。混有 Li⁺、Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、Ba²⁺、Pb²⁺、Al³⁺、Cr³⁺、Cd²⁺、Fe²⁺、Fe³⁺、Ag⁺、Hg²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺、Cu²⁺ 和 Co²⁺ 对于多齿探针 6 的荧光光谱没有任何影响,但是 Zn²⁺ 和 Cd²⁺ 会导致 410 nm 的吸收中度增强。但这种增强显然与加入 Cu⁺ 的吸收有巨大差别, Cu⁺ 会使探针 6 的吸收由 410 nm 迅速红移到 470 nm, 在 365 nm 紫外灯条件下, 这种变化就是从紫色转变到蓝绿色。不仅仅是红移现象显著, 发射强度比值也由 0.26 急速提升至 13.82。由于与探针极强的配位能力, Zn²⁺、Ni²⁺ 和 Cd²⁺ 可以较大程度降低探针 6 对 Cu⁺ 的探测能力。面对 Cu²⁺, 探针 6 表现出的发射强度比率是 0.42, 同样远小于 Cu⁺ 的 13.82, 据此也可以区分二者。因此, 探针 6 是专门针对 Cu⁺ 的一种高选择性金属离子探针, 探测 Cu⁺ 的极限浓度是 2.29×10⁻⁴ mmol/L。

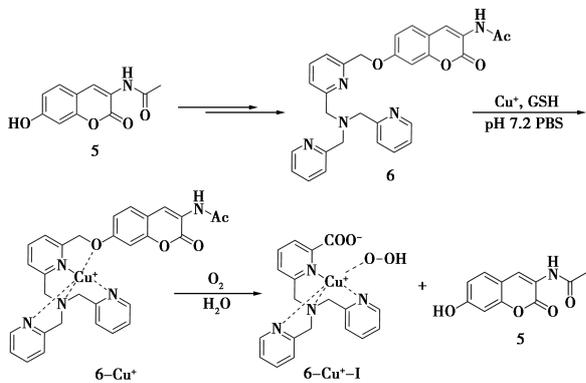


图 4 Cu⁺ 探针的合成与应用

Fig.4 Synthesis and application of the probe for Cu⁺

1.4 检测 Pd²⁺ 的荧光探针

金属钯被广泛用于催化有机化学反应、材料化学和珠宝行业,这导致钯在产物中的残留十分严重,可以达到 300~2 000 mg/kg, 这样的残留严重威胁人类健康^[23]。人的钯摄入量是每人每天低于 1.5 μg。实时高效检测环境与生物体中的钯含量具有十分现实的意义^[24]。Hou 等^[25] 以 7-二乙氨基-3-(N-氯乙酰氨基)香豆素为原料,通过点击化学的方案快速合成了含三氮唑骨架的香豆素探针 7 (图 5)。探针 7 在含 0.5% DMF、pH 7.2 的 PBS 缓冲液中显示出强的荧光, 发光峰位于 491 nm 处。当在探针 7 的溶液中加入 Pd²⁺ 后, 荧光逐渐淬灭, 同时荧光发射峰由 491 nm 蓝移到 480 nm。当加入 5 倍量的 Pd²⁺ 后, 探针 7 的荧光完全淬灭。探针 7 与 Pd²⁺ 应该是 1:1 的配位螯合, 对 Pd²⁺ 的检测限为 2.6×10⁻⁷ mol/L。在等量的 Pd²⁺ (5 μmol/L) 存在下, 探针 7 (5 μmol/L) 的

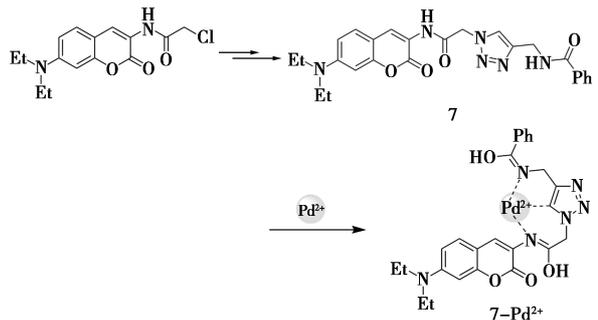


图 5 含三氮唑骨架的 Pd²⁺ 香豆素探针

Fig.5 Coumarin-based probe bearing-triazole moiety for Pd²⁺

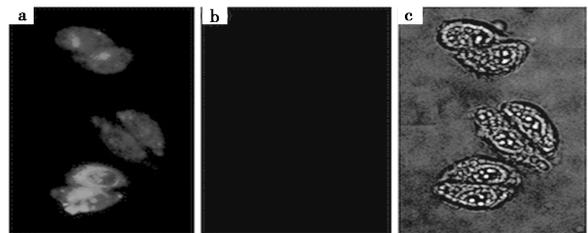


图 6 Hella 细胞的共聚焦荧光成像图片: 细胞在含 10 μmol/L 探针 7 的生理盐水中培育 30 min 的荧光图像 (a); 细胞紧接着在含 20 μmol/L 探针 Pd²⁺ 的生理盐水中额外培育 30 min 的荧光图像 (b); 图 a 的亮场图像 (c)^[25]

Fig.6 Confocal fluorescence images in HeLa cells: Fluorescence images of cells incubated with 10 μmol/L probe 7 in physiological saline for 30 min (a); then incubated with 20 μmol/L Pd²⁺ for another 30 min (b); bright-field image of Fig.a (c)^[25]

荧光淬灭可以在 5 min 内完成,快于已经报道的所有 Pd²⁺ 探针。探针 7 的工作 pH 范围广,在 pH 3.0~9.0 范围都能有效发挥作用。K⁺、Na⁺、Li⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cr³⁺、Co²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺、Hg²⁺、Pb²⁺、Cu²⁺、Ba²⁺、Al³⁺、Fe³⁺、Pt²⁺、Ru³⁺ 和 Ni²⁺ 对 Pd²⁺ 的检测都没有干扰。尤其是,通常明显干扰 Pd²⁺ 检测的 Pt²⁺,也不能干扰探针 7 对于 Pd²⁺ 的检测。探针 7 无细胞伤害,能够很好地穿透细胞膜,可通过荧光淬灭效应检测 HeLa 细胞中的 Pd²⁺ (图 6)。

1.5 检测和区分 Zn²⁺ 和 Cd²⁺ 的荧光探针

锌和铬均是周期表中 II B 的元素,具有非常相近的配位功能,二者很难被区分。两者在细胞中的作用差异巨大,锌是许多酶的辅因子,镉离子却是有毒的,严重影响人体健康^[26]。开发一种简单高效的监测和区分锌、镉离子的方法具有现实的挑战性和应用价值^[27,28]。此外,硫阴离子可能来源于化学或生物发酵过程,是熟知的臭名昭著的有毒污染物,开发一种快速监测水介质和生物系统中硫化物荧光探针意义重大。Hou 等^[29] 用 7-二乙氨基-3-氨基香豆素为原料合成了二(2-吡啶甲基)氨基骨架的香豆素探针 8 (图 7)。在含 0.5% DMSO、pH 7.4 的 HEPES 缓冲液中,探针 8 在 500 nm 发射出很强的绿色荧光。主族元素金属离子如 Na⁺、Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 对探针 8 的发光没有干扰。但是,重过渡金属离子如 Hg²⁺、Co²⁺、Ni²⁺ 和 Cu²⁺ 导致探针 8 的绿色荧光淬灭。Cd²⁺ 仅诱使探针 8 的绿色荧光微弱红移到 505 nm,而 Zn²⁺ 使探针 8 的荧光峰红移到 516 nm,这种变化显然不是肉眼可分辨的,因此探针 8 很难直接区分 Zn²⁺ 和 Cd²⁺。但是,在 Co²⁺ 淬灭的水溶液中加入 Zn²⁺,可以使探针 8 的绿色荧光恢复,添加 Cd²⁺ 仅有微弱的恢复。因此可以通过探针 8 与 Co²⁺ 配合后的

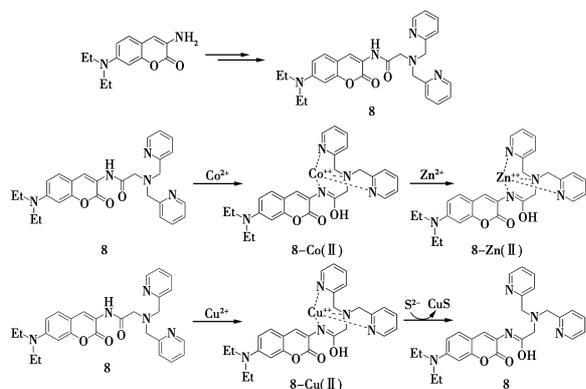


图 7 多功能 Zn²⁺ 与 S²⁻ 荧光探针

Fig.7 Multifunctional fluorescent probe for Zn²⁺ or S²⁻

荧光关闭与加入 Zn²⁺ 后使绿色荧光再次打开策略很容易地分辨检测 Zn²⁺,检测限为 5.7×10⁻⁷ mol/L。荧光的淬灭与恢复都强烈地依赖于两种金属离子的浓度。虽然 Cu²⁺ 配位的探针 8 不能够区分 Zn²⁺ 和 Cd²⁺,但是却可以探测硫化物,可溶性硫化物可以使荧光淬灭的探针 8-Cu(II) 配合物的荧光复原,原因在于 Cu²⁺ 与硫化物反应产生了不溶的 CuS。配合物 8-Cu(II) 还能穿透细胞膜,顺利地通过荧光的关-开机制检测含 S²⁻ 的 HeLa 细胞。

2 检测生物硫醇和 H₂O₂ 的荧光探针

众所周知,生物硫醇在有机体和细胞中具有重要的生理作用,如还原性谷胱甘肽 GSH 在维持细胞处于还原状态、维持血红细胞输氧活性、细胞内信号传导与基因调控诸方面发挥着重要作用^[30]。生物硫醇在机体中的浓度异常往往预示着各种损害的发生,开发检测生物硫醇的荧光探针备受关注^[31,32],不断有新的针对生物硫醇检测的新探针被开发出来,3-氨基香豆素为原料的生物硫醇的探针也有一些报道。

2.1 检测生物硫醇的荧光探针

有许多针对生物硫醇的荧光探针已经被开发出来,但是这些探针通常都不稳定,不能实时快速检测生物条件下的硫醇含量。基于硫醇-马来酰亚胺的生物偶联反应机理,Yi 等^[33] 以 7-羟基-3-氨基香豆素为原料快捷地制备了共价连接马来酸骨架的香豆素探针 9 (图 8)。该探针结构稳定,无论是固体状态下或其 DMSO 溶液可以稳定放置数月。探针 9 是一种信噪比高、响应快、选择性强、反应快、高敏感的“turn-on”型硫醇探针,与 β-巯基乙醇、半胱氨酸 (Cysteine, Cys)、GSH 反应,探针 9 会迅速由无荧光转变为蓝绿色荧光。探针 9 与硫醇分子的结合是一种表现一级反应,其他氨基酸不干扰探针 9 对半胱氨酸等硫醇分子的检测,检测 Cys 的速率比已报道的其他类似探针要快 20 倍。GSH 与探针 9 反应可以使其荧光量子效率增加 470 倍,荧光量子效率由 Φ=0.001 增加到 Φ=0.47,对 GSH 的检出限最低可以达到 0.5 nmol/L 水平。含二硫键的 GSSG 和胱氨酸不能使探针 9 显示荧光。探针 9 也可以用于检测含硫醇基团的蛋白质,可以定量检测出极低浓度的牛血清白蛋白 BSA (50 ng),10 倍于考马斯亮蓝 (500 ng)。同型二聚体的谷胱甘肽还原酶 (GSH Reductase, GR) 可以催化 NADPH 把 GSSG 还原成

GSH, 探针 9 可以用于快速定量检测未知 GR 的含量, 同时也可以通过高通量筛选 (High Throughput Screening, HTS) 确定 GR 的金属抑制剂。探针 9 可以穿透细胞膜, 快速地检测细胞内如人胚肾细胞系 (HEK-293) 中的 GSH (图 9)。

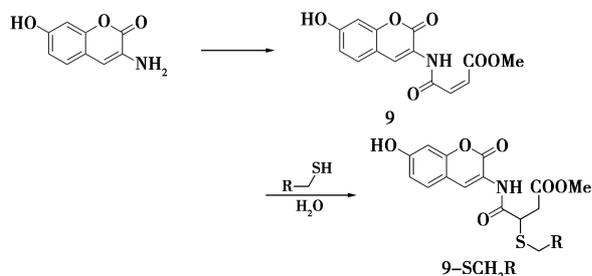


图 8 “Turn-on” 探针探测硫醇分子

Fig.8 “Turn-on” probe for thiol-bearing molecules

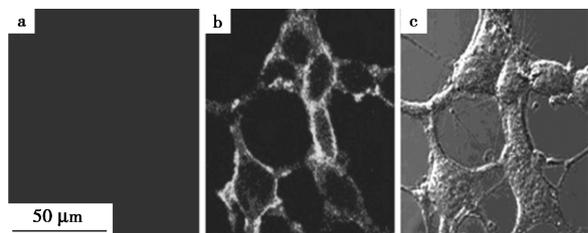


图 9 HEK 293 细胞的共聚焦荧光图像: 探针 9 培育前的图像 (a); 探针 9 (1.0 μmol/L) 培育 5 min 后的图像 (b); 细胞的亮场图像 (c) [33]

Fig.9 Confocal fluorescence images of HEK 293 cells: Fluorescence image before (a); after treating the cells with 9 (1.0 μmol/L) for 5 min at room temperature (b); Bright field image of the cells (c) [33]

Zhang 等 [34] 发展了基于双淬灭效应与双反应活性效应的生物硫醇探针 10 (图 10)。他们在荧光发色团 7-羟基-3-氨基香豆素的 7-羟基位置连接了强的拉电子效应的、具有分子内电荷转移 (Intramolecular Charge Transfer, ICT) 效应的 2,4-二硝基苯磺酸骨架, 而在 3-氨基部位接入了光诱导电子转移 (Photoinduced Electron Transfer, PET) 效应的马来酸骨架, 得到了含双淬灭官能团的荧光探针 10。在 pH 7.4 的 PBS 缓冲溶液中, 在不含硫醇的情况下, 探针 10 几乎没有荧光, 最大吸收在 330 nm 处。由于接入了强 ICT 效应的 2,4-二硝基苯磺酸骨架, 探针 10 更容易与硫醇分子反应, 可以既发生亲电取代反应又发生硫醇-马来酰亚胺效应的共轭加成反应, 使 2,4-二硝基苯磺酸骨架因为硫醇的酯解离开香豆素发色团, 探针 10 与硫醇立刻反应并显出蓝色荧光。探针 10 同样对硫醇具有高度选择性, 其他 19 种氨基酸都不能

干扰它对 Cys 和其他生物硫醇的检测。Cys 等硫醇分子与探针 10 反应后迅速出现的荧光的最大发射峰位于 470 nm, 硫醇反应后的荧光强度比硫醇反应前增加 400 倍以上。作者研究发现, 探针 10 还可以用于检测 H₂S 气体。Hela 细胞的实验证实, 探针 10 可以穿过细胞膜高效率检测细胞内的生物硫醇。

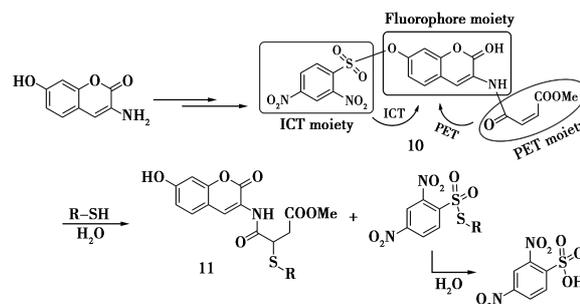


图 10 双淬灭与双激活效应生物硫醇探针

Fig.10 Dual-quenching and dual-activating effective probe toward biothiols

以往报道的生物硫醇的探针大都是基于 Michael 加成、亲核加成、二硫键断裂、金属-硫醇作用、天然化学偶联、氧化还原、亲核取代反应等模式, 其设计概念几乎都是源于经典的 ICT、PET 或荧光共振能量转移 (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET) 原理。Ji 等 [35] 以 7-二乙氨基-3-氨基香豆素为原料快捷地合成了系列含卤素元素的香豆素荧光探针 11 (图 11)。由于卤素的引入, 原本发光的原料的荧光都被淬灭了。探针 11a、11b 和 11c 的荧光量子产率 Φ 分别仅是 0.15、0.066 和 0.073 (当 X=H 时, $\Phi=0.63$)。探针 11 是迄今为止最小的“turn-on”型生物硫醇荧光探针。当加入 Cys 溶液时, 除含 Cl 原子的探针 11a 荧光不能恢复外, 含 Br 和 I 原子的探针 11b、11c 的荧光都迅速恢复, 发出蓝绿色荧光, 最大发射峰位于 495 nm, 荧光强度增大的幅度具有 Cys 浓度依赖性, 二者呈正相关。加入其他非巯基氨基酸和 Vc, 均不能使探针 11b 和 11c 发蓝绿色荧

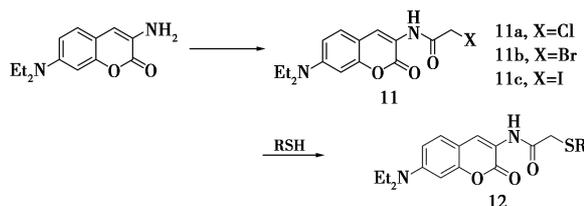


图 11 含重卤族元素的生物硫醇荧光探针

Fig.11 Heavy halogen atom-bearing fluorescent probes toward biothiols

光,但是检测不同生物硫醇的速度不一致,其反应速度快慢的排列顺序是: Cys > GSH > Hcy。探针 11b 和 11c 也可以用于检测含硫醇的蛋白质如 BSA。Hela 细胞研究证明,两个重卤素探针无明显的细胞毒性,可以顺利穿过细胞膜,检测细胞内的生物硫醇。

2.2 检测生物硫醇和 H₂O₂ 的双功能荧光探针

细胞和生物体内硫醇的含量异常通常关联着反常的生理状态或者疾病^[36]。H₂O₂ 是细胞内最主要的活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS),高浓度的 H₂O₂ 提示衰老、肿瘤、Alzheimer 和心血管疾病^[37]。尽管已有许多针对细胞内检测生物硫醇的荧光探针的报道^[38],但是一既能检测生物硫醇又可以检测细胞内 H₂O₂ 浓度的双响应性、单一分子的双功能荧光探针,还没有报道。Ang 等^[39]以 7-二乙氨基-3-氨基香豆素为原料,设计合成了一种双响应性荧光探针 13(图 12),其结构特点是,由二硫键桥联了香豆素与二硼氧杂蒽螺异苯并呋喃,由于 PET 效应,探针 13 仅有微弱的荧光。探针 13 遇到生物硫醇,二硫键断裂,发出香豆素发色团单元自身的蓝绿色荧光。当探针 13 与 H₂O₂ 反应,二硼氧杂蒽螺异苯并呋喃被氧化转变为荧光剂,香豆素部分对二羟基氧杂蒽螺异苯并呋喃产生 FRET 效应,探针发出绿色荧光。因此,二硼氧杂蒽螺异苯并呋喃骨架既是香豆素的荧光淬灭子,又是 H₂O₂ 的检测子,在探针中有双重作用。在 408 nm 光激发下,探针 13 溶液在 497 nm 处发出微弱的荧光($\Phi = 0.001$)。当在探针 13 溶液中加入二硫苏糖醇 DTT 后,497 nm 处的荧光峰增强($\Phi = 0.168$)。当在探针 13 溶液中加入 H₂O₂ 后,在 497 nm 处出现一个弱的发射峰($\Phi = 0.101$),并在 525 nm 处出现一个较强绿光的发光峰。另外,探针 13 溶液中加入 H₂O₂ 后,在 497 nm 处出现了一个新的吸收峰。因此,香豆素发色团单元在 497 nm 处的发射带与荧光素结构单元在 497 nm 处的吸光带之间存在完全的光谱重叠。这一结果表明,探针 13 与 H₂O₂ 反应后分子内存在 FRET 现象。探针 13 的灵敏度和选择性良好,仅对 DTT、GSH、Hcy、Cys 和 H₂O₂ 有正反应,与其他氨基酸没有荧光反应发生。在硫醇检测中,反应速度的快慢大致顺序是: DTT > Hcy ~ Cys > GSH。无论是生物硫醇还是 H₂O₂,探针的荧光强度都与它们的浓度呈线性正相关。Hela 细胞的实验证实,探针 13 可以很好地检测细胞内的

生物硫醇和 H₂O₂。

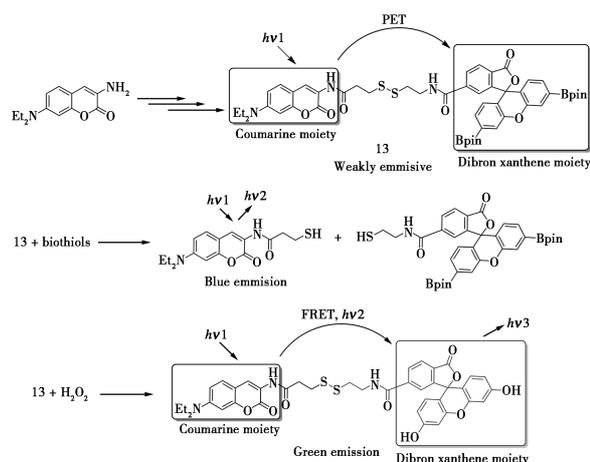


图 12 检测生物硫醇与 H₂O₂ 的双响应性荧光探针

Fig.12 Dual-responsive fluorescent probe toward biothiols and H₂O₂

3 检测含 Cys 的蛋白质的荧光探针

布鲁顿酪氨酸激酶(Bruton's Tyrosine Kinase, BTK)在 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞信号传导中发挥了关键作用^[40]。现在发现,BTK 的过度表达与多发性骨髓瘤、原发性巨球蛋白血症、胃癌和胸腺癌相关。BTK 现在是治疗慢性淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤、原发性巨球蛋白血症和自体免疫性疾病的药物作用靶点^[41]。精确地检测 BTK 的表达与作用对于上述疾病的诊断与治疗意义重大。依鲁替尼(ibrutinib, PCI-32765)是治疗套细胞淋巴瘤的有效靶向药物^[42],因为 BTK 蛋白的 Cys481 对依鲁替尼的丙烯酰胺的特异性共轭加成,从而依鲁替尼能够不可逆地抑制 BTK 的活性。基于依鲁替尼对 BTK 专一性不可抑制特点,已经开发了一些针对 BTK 的荧光探针^[43,44]。Wang 等^[45]把香豆素-马来酰亚胺和依鲁替尼整合在一起,合成了生理条件下检测 BTK 的探针 14,并在分子中巧妙地植入了末端炔基作为点击化学(Click Chemistry)的抓手,后期可以通过点击化学方便分离、纯化并确认和探针 14 发生反应的 BTK 蛋白(图 13)。探针 14 结构稳定,可以在固体状态或溶解于 DMSO 中稳定数月时间。CCK-8 细胞活性实验检测确认探针 14 具有类似于依鲁替尼对 BTK 的不可逆抑制活性,与细胞温浴 5 min 就可以观察到荧光开关被打开,显示出预期的蓝色荧光,温浴 1 h 时荧光强度即达到最大值(图 14)。1 μmol/L 的探针 14 既可以检测到最

低 $0.06 \mu\text{mol/L}$ 的 BTK。探针 14 表现出优异的选择性,对 BTK 的选择性明显优于 BSA 和 GSH,其荧光表现可以被依鲁替尼竞争性地抑制。无论是体外或在体内实验(*in vitro* or *in vivo*),探针 14 与重组 BTK 温浴后,通过点击化学与 TAMRA- N_3 反应,方便地把探针 14-BTK 偶联物分离出来并进一步由实验确认 BTK 蛋白的身份。体外实验确认 BTK 的可视化检测限为 6.7 pmol/L ,活细胞温浴 10 min 就可以探测出低至 10 nmol/L 的重组 BTK 蛋白。探针 14 与活细胞温浴 20~30 min,就可以对活细胞实施最佳的非冲洗荧光标记成像检测 BTK 蛋白。

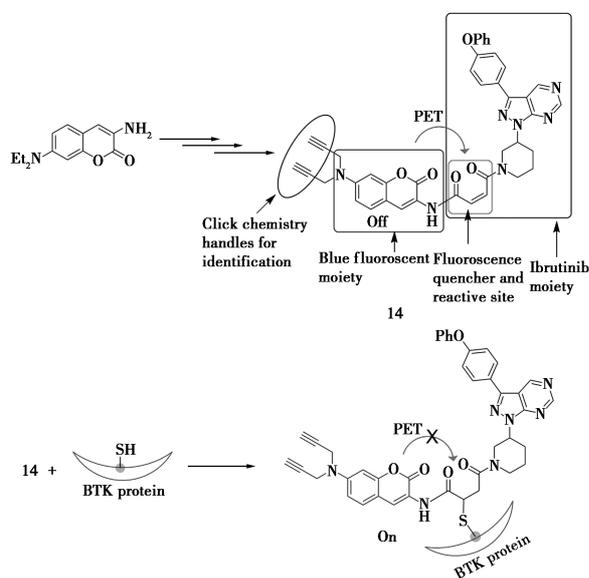


图 13 基于香豆素的 BTK 探针

Fig.13 Coumarin-based probe toward BTK protein

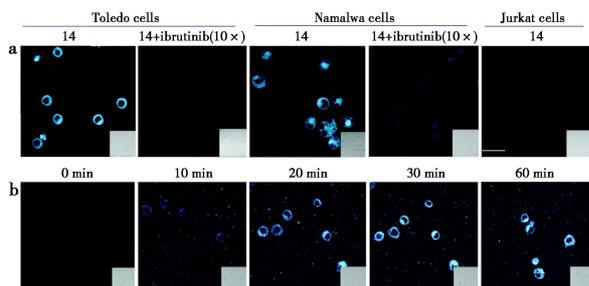


图 14 Toledo, Namalwa 和 Jurkat 细胞在有或无探针 14 ($1 \mu\text{mol/L}$) 抑制剂 Ibrutinib 时的细胞图像 (a); Toledo 细胞与探针 14 ($1 \mu\text{mol/L}$) 的实时无冲洗 BTK 图像 (b)^[45]

Fig.14 Cellular imaging of probe 14 with Toledo, Namalwa and Jurkat cells in the presence or absence of the parent inhibitors ($1 \mu\text{mol/L}$ probe concentration) (a); Real-time no-wash imaging of BTK with probe 14 ($1 \mu\text{mol/L}$ probe concentration) in Toledo cells (b)^[45]

4 结论与展望

7-羟基-3-氨基香豆素或 3,7-二氨基香豆素是优秀的蓝色或蓝绿色荧光发色团,容易合成、结构稳定,是发展经济高效荧光探针的优秀原料。迄今为止,以 3-氨基香豆素为起始物发展的荧光探针可以成功地实时、可视化检测多种金属离子、 S^{2-} 、 H_2O_2 、生物硫醇、以及含 Cys 残基的重组 BTK 蛋白质,展现了 3-氨基香豆素在开发经济、高效、可视化生物荧光探针方面的良好前景。尽管基于 3-氨基香豆素开发的探针,已可以特异性高效检测 Hg^{2+} 、 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Cu^+ 、 Pd^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cr^{2+} ,但在检测对健康与环境影响较为严重的其他金属离子方面,还有很大的发展空间;已可以很好地检测常见的生物硫醇小分子和特异性检测 BTK 蛋白,但在特异性检测更多含硫醇蛋白方面,还有很多工作要做;此外,以 3-氨基香豆素为原料的生物探针,在检测其他种类的生物活性分子方面,还是一个空白。因此,发展更多的、结构新颖的含 3-氨基香豆素的荧光探针,实施高效地可视化检测更多生物分子及其功能,是今后更具挑战性和发展空间的研究方向。

参考文献:

- [1] CHEN X, HUANG Z, HUANG L, et al. Small-molecule fluorescent probes based on covalent assembly strategy for chemoselective bioimaging [J]. *RSC Adv.*, 2022, **12**(3): 1 393-1 415.
- [2] FU Y, FINNEY N S. Small-molecule fluorescent probes and their design [J]. *RSC Adv.*, 2018, **8**(51): 29 051-29 061.
- [3] WAGH S B, MASLIVETC V A, LA CLAIR J J, et al. Lessons in organic fluorescent probe discovery [J]. *ChemBioChem*, 2021, **22**(22): 3 109-3 139.
- [4] LUO X, GU L, QIAN X, et al. Molecular probe design via the "covalent-assembly" principle [J]. *Chem. Commun.*, 2020, **56**(64): 9 067-9 078.
- [5] YU T Z, ZHANG P, ZHAO Y L, et al. Synthesis, crystal structure and photo- and electro-luminescence of the coumarin derivatives with benzotriazole moiety [J]. *Org. Electron.*, 2010, **11**(1): 41-49.
- [6] YU T Z, ZHU Z Y, BAO Y J, et al. Investigation of novel carbazole-functionalized coumarin derivatives as organic luminescent materials [J]. *Dyes Pigments*, 2017, **147**: 260-269.

- [7] WANG Y J, LI Y M, YU T Z, et al. Functionalized coumarin derivatives containing aromatic-imidazole unit as organic luminescent materials [J]. *Dyes Pigments*, 2020, **173**: 107-118.
- [8] CHEN Z, ZENG P, ZHANG S, et al. Recent advances in organic synthesis of 3-amino- or 4-aminocoumarins [J]. *Mini-Rev. Org. Chem.*, 2022, **19**(4): 451-479.
- [9] PATRA P, MANNA S, PATRA S, et al. The synthesis, biological evaluation, and fluorescence study of 3-aminocoumarin and their derivatives: A brief review [J]. *Monatsh. Chem.*, 2023, **154**(1): 1-31.
- [10] SHAILY D K. Coumarin-based fluorescent sensors [J]. *Appl. Organomet. Chem.*, 2023, **37**(7): e7-138.
- [11] TIAN G, ZHANG Z, LI H, et al. Design, synthesis and application in analytical chemistry of photo-sensitive probes based on coumarin [J]. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2021, **51**(6): 565-581.
- [12] CAO D, LIU Z, VERWILST P, et al. Coumarin-based small-molecule fluorescent chemosensors [J]. *Chem. Rev.*, 2019, **119**(18): 10 403-10 519.
- [13] LI L, WANG J, XU S, et al. Dong, recent progress in fluorescent probes for metal ion detection [J]. *Front. Chem.*, 2022, **10**: 875-241.
- [14] CHEN W, MA X, CHEN H, et al. Fluorescent probes for pH and alkali metal ions [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **427**: 213-584.
- [15] 张人杰, 史纪福, 王雪, 等. 汞离子荧光探针的研究进展 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(9): 1 325-1 333.
- [16] TSUKAMOTO K, SHINOHARA Y, IWASAKI S, et al. A coumarin-based fluorescent probe for Hg²⁺ and Ag⁺ with an N¹-acetylthioureido group as a fluorescence switch [J]. *Chem. Commun.*, 2011, **47**(17): 5 073-5 075.
- [17] FALCONE E, OKAFOR M, VITALE N, et al. Extracellular Cu²⁺ pools and their detection: From current knowledge to next-generation probes [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **433**: 213-727.
- [18] 杨杨, 陈晓彤, 李鹏, 等. 咪唑-二氨基马来腈类荧光探针的合成及对 Cu²⁺ 和 ClO⁻ 的检测 [J]. *分析试验室*, 2021, **40**(1): 34-39.
- [19] GHOSH K, SARKAR T, TARAFDAR D. Coumarin-based symmetrical bisamide as fluorescent and colorimetric probes for copper ions [J]. *Supramol. Chem.*, 2012, **24**(3): 197-203.
- [20] YIN R, YU L, SU P, et al. Fluorescent probe visualization for selective detection of cuprous ion [J]. *Anal. Sci.*, 2022, **38**(1): 145-150.
- [21] DOMAILLE D W, ZENG L, CHANG C J. Visualizing ascorbate-triggered release of labile copper within living cells using a ratiometric fluorescent sensor [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**(4): 1 194-1 195.
- [22] YU K K, LI K, HOU J T, et al. Coumarin-TPA derivative: A reaction-based ratiometric fluorescent probe for Cu(I) [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2013, **54**(43): 5 771-5 774.
- [23] KÖKTÜRK M, ALTINDAG F, NAS M S, et al. Ecotoxicological effects of bimetallic PdNi/MWCNT and PdCu/MWCNT nanoparticles onto DNA damage and oxidative stress in earthworms [J]. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 2022, **200**(5): 2 455-2 467.
- [24] SHE M, WANG Z, CHEN J, et al. Design strategy and recent progress of fluorescent probe for noble metal ions (Ag, Au, Pd, and Pt) [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **432**(4): 213-712.
- [25] HOU J T, LI K, YU K K, et al. Novel triazole-based fluorescent probes for Pd²⁺ in aqueous solutions: Design, theoretical calculations and imaging [J]. *Analyst*, 2013, **138**(21): 6 632-6 638.
- [26] KOT F S. The effect of natural geochemical background on neurological and mental health [J]. *Expo. Health.*, 2020, **12**: 569-591.
- [27] ROSALES-VÁZQUEZ L D, DORAZCO-GONZALEZ A, SÁNCHEZ-MENDIETA V. Efficient chemosensors for toxic pollutants based on photoluminescent Zn(II) and Cd(II) metal-organic networks [J]. *Dalton Trans.*, 2021, **50**(13): 4 470-4 485.
- [28] SHI C T, HUANG Z Y, WU A B, et al. Recent progress in cadmium fluorescent and colorimetric probes [J]. *RSC Adv.*, 2021, **11**(47): 29 632-29 660.
- [29] HOU J T, LIU B Y, LI K, et al. Two birds with one stone: Multifunctional and highly selective fluorescent probe for distinguishing Zn²⁺ from Cd²⁺ and selective recognition of sulfide anion [J]. *Talanta*, 2013, **116**: 434-440.
- [30] GILES N M, WATTS A B, GILES G I, et al. Metal and redox modulation of cysteine protein function [J]. *Chem. Biol.*, 2003, **10**(8): 677-693.
- [31] 朱金彪, 闫力强, 吴雄志. 基于氟硼二吡咯亚甲基荧光探针的研究进展 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(5): 633-642.
- [32] 覃柳馨, 陈卫卫, 王刚, 等. 肿瘤氧化还原荧光探针的研究进展 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(6): 736-746.
- [33] YI L, LI H, SUN L, et al. A highly sensitive fluorescence probe for fast thiol-quantification assay of glutathione reductase [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**(22): 4 034-4 037.

- [34] ZHANG H, ZHANG C, LIU R, et al. A highly selective and sensitive fluorescent thiol probe through dual-reactive and dual-quenching groups [J]. *Chem. Commun.*, 2015, **51**(11): 2 029-2 032.
- [35] JI W, JI Y, JIN Q, et al. Heavy atom quenched coumarin probes for sensitive and selective detection of biothiols in living cells [J]. *Analyst*, 2015, **140**(13): 4 379-4 383.
- [36] ANG C Y, TAN S Y, ZHAO Y. Recent advances in biocompatible nanocarriers for delivery of chemotherapeutic cargoes towards cancer therapy [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2014, **12**(27): 4 776-4 806.
- [37] NATHAN C, CUNNINGHAM-BUSSEL A. Beyond oxidative stress; An immunologist's guide to reactive oxygen species [J]. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, **13**(5): 349-361.
- [38] KAUSHIK R, NEHRA N, NOVAKOVA V, et al. Near-infrared probes for biothiols (cysteine, homocysteine, and glutathione): A comprehensive review [J]. *ACS Omega*, 2023, **8**(1): 98-126.
- [39] ANG C Y, TAN S Y, WU S, et al. A dual responsive "turn-on" fluorophore for orthogonal selective sensing of biological thiols and hydrogen peroxide [J]. *J. Mater. Chem. C*, 2016, **4**(14): 2 761-2 774.
- [40] MOLINA-CERRILLO J, ALONSO-GORDOA T, GAJATE P, et al. Bruton's tyrosine kinase (BTK) as a promising target in solid tumors [J]. *Cancer Treat. Rev.*, 2017, **58**: 41-50.
- [41] SEILER T, DREYLING M. Bruton's tyrosine kinase inhibitors in B-cell lymphoma: Current experience and future perspectives [J]. *Expert. Opin. Invest. Drugs*, 2017, **26**(8): 909-915.
- [42] LOU Y T, OWENS D, KUGLSTATTER A, et al. Bruton's tyrosine kinase inhibitors: Approaches to potent and selective inhibition, preclinical and clinical evaluation for inflammatory diseases and B cell malignancies [J]. *J. Med. Chem.*, 2012, **55**(10): 4 539-4 550.
- [43] ZARO B W, WHITBY L R, LUM K M, et al. Metabolically labile fumarate esters impart kinetic selectivity to irreversible inhibitors [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**(49): 15 841-15 844.
- [44] REDDI R N, ROGEL A, RESNICK E, et al. Site-specific labeling of endogenous proteins using CoLDR chemistry [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, **143**(48): 20 095-20 108.
- [45] WANG X, MA N, WU R, et al. A novel reactive turn-on probe capable of selective profiling and no-wash imaging of Bruton's tyrosine kinase in live cells [J]. *Chem. Commun.*, 2019, **55**(24): 3 473-3 476.

磁性石墨烯复合材料的制备及应用研究进展

张阳

(安徽工业大学 材料科学与工程学院,安徽 马鞍山 243032)

摘要:磁性石墨烯复合材料结合了纳米材料和磁性材料的优势,具有量子尺寸和宏观量子隧道等效应,被广泛应用于新能源、生物医学等领域。然而,磁性石墨烯复合材料的性能和应用受到其尺寸、形貌和晶体结构的影响,因此选择适当的制备方法对于开发出性能优越、应用广泛的磁性石墨烯复合材料至关重要。综述了近年来磁性石墨烯复合材料的制备方法及应用研究进展,重点介绍了制备方法的原理、优缺点及应用实例,并展望了未来的发展方向。

关键词:磁性纳米材料;石墨烯;纳米复合材料;制备;应用

中图分类号:TB33 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)12-0018-08

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0463

Research Progress in the Preparation and Application of Magnetic Graphene Composites ZHANG Yang (School of Materials Science and Engineering, Anhui University of Technology, Maanshan 243032, China)

Abstract: Magnetic graphene composites combine the advantages of nanomaterials and magnetic materials with quantum size and macroscopic quantum tunneling effects, which are widely used in energy, biomedicine and other fields. However, the performance and application of magnetic graphene composites are affected by their size, morphology, and crystal structure. Therefore, the selection of appropriate preparation methods is essential to develop magnetic graphene composites with superior performance and wide applications. In the review, we presented the preparation methods and research developments on the application of magnetic graphene composites in recent years. Furthermore, we highlighted the principles, advantages, and disadvantages of the preparation methods and application examples. Finally, we discussed the future perspectives of magnetic graphene composites.

Key words: magnetic nanomaterials; graphene; nanocomposites; preparation; application

石墨烯是一种由碳原子构成的单层二维物质,具有特殊的二维结构和优异的性能。其高比表面积、优异的化学稳定性、机械性能和光电性能使其成为各研究领域的热点^[1,2]。同时,磁性纳米粒子兼具磁效应和纳米效应的特点,使得它们在吸附和固液分离方面具有很大的潜力。通过将石墨烯与磁性纳米粒子结合起来,可以充分发挥二者之间的协同作用,有效克服石墨烯易聚集、磁性纳米粒子易团聚的问题。

近年来,磁性石墨烯复合材料在众多领域已取得重要的应用进展。在新能源领域,磁性石墨烯复合材料被广泛应用于电池、超级电容器的制备,并展现出良好的循环稳定性和电化学性能^[3-5]。此外,磁性石墨烯复合材料也被广泛应用于生物医学^[6]、微波吸收^[7]、重金属吸附^[8]等领域。本文系统分析了磁性石墨烯复合材料近年来的一些主要制备方法,并总结了常用制备方法的应用实例。旨在为制备不同性能的磁性石墨烯复合材料提供参考,并为进一步推进其研究应用提供新的思路。

1 磁性石墨烯复合材料的制备方法

磁性石墨烯复合材料的制备主要采用物理和化学方法。物理方法包括直接磁化法;化学方法包括水热法、气液界面法、电化学法、化学共沉淀法、溶胶-凝胶法和化学接枝法等。这些方法都能在温和条件下进行,具有可操作性和可控性,可根据需求灵活调节合成条件。

1.1 直接磁化法

直接磁化法在制备磁性石墨烯复合材料时,直接将磁性物质与其他组分混合并进行磁化。该制备方法简便易行、制备快速、能够实现高效的磁性掺杂,是制备磁性石墨烯复合材料的理想方法^[9]。

Han 等^[10]利用高亲水性氧化石墨烯片和带正电荷的 Fe_3O_4 纳米颗粒表面间的静电相互作用

收稿日期:2023-07-10;网络首发日期:2023-07-31

作者简介:张阳(2003-),女,安徽阜阳人,本科生,主要研究方向为新能源材料与器件,E-mail:zyang187135@163.com。

引用本文:张阳.磁性石墨烯复合材料的制备及应用研究进展[J].化学试剂,2023,45(12):18-25。

用,在水溶液中成功合成了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ 纳米复合材料,如图 1 所示。该材料在多环芳烃分析物的吸附萃取中表现出优异性能,但存在稳定性差、无法多次重复利用的局限性。

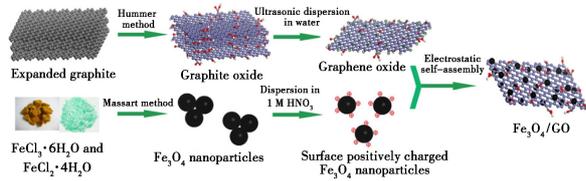


图 1 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ 纳米复合材料的制备示意图^[10]

Fig.1 Schematic diagram of the preparation of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ nanocomposites^[10]

1.2 水热法

水热法是合成磁性石墨烯复合材料的重要方法之一,以水为介质,在高压条件下,使难溶或不溶的物质溶解并重新结晶,从而实现磁性物质与石墨烯的复合^[11]。此法不仅可以促进氧化石墨烯的还原,还能使磁性粒子分散在石墨烯表面形成空间位阻,从而防止石墨烯团聚,实现两者的高效复合^[12]。

Long 等^[13]采用水热法制备了一种高活性氧化石墨烯(GO)/多壁碳纳米管(MWCNTs)/ Fe_3O_4 三元纳米复合吸附剂。其中,氧化石墨烯和多壁碳纳米管之间通过 $\pi-\pi$ 吸引力形成复合结构,如图 2 所示。研究结果显示,这种三元复合材料具有较大的比表面积,能够有效防止氧化石墨烯纳米片之间的 $\pi-\pi$ 堆积相互作用,并显著改善表面的吸附位点。Gan 等^[14]利用水热法在 CoFe_2O_4 颗粒辅助下合成磁性石墨烯复合材料,利用此法制备磁性石墨烯复合材料一方面可以抑制组分的挥发,另一方面有利于改善复合材料的磁性。

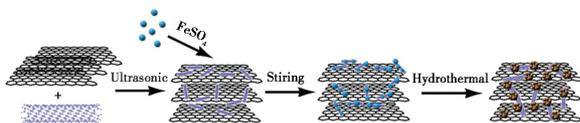


图 2 氧化石墨烯/MWCNTs/ Fe_3O_4 三元纳米复合材料的合成示意图^[13]

Fig.2 Schematic diagram of graphene oxide/MWCNTs/ Fe_3O_4 ternary nanocomposites^[13]

通过水热法合成的磁性石墨烯复合材料具有粒度分布窄、可控性好、分散性好、吸附容量大的特点。然而,水热法对温度和压力的控制要求较高,同时在观察晶体生长和材料形貌方面也存在一定的技术挑战。

1.3 气液界面法

气液界面法是一种多相反应过程,适用于气相和液相同时存在的反应物体系。Lian 等^[15]通过气液界面法成功合成了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ 纳米复合材料,并进行了表征。实验结果显示, Fe_3O_4 纳米颗粒在该合成过程中易于聚集形成更大的颗粒。此外,通过 X 射线衍射分析发现, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ 纳米复合材料中没有明显的衍射峰,表明石墨烯纳米片的堆叠是无序的。对比 Fe_3O_4 纳米颗粒发现, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ 复合材料展现出了更好的孔隙率,这对于吸附和储存气体、液体以及其他分子物质具有重要意义。

1.4 电化学法

电化学法用于制备磁性石墨烯复合材料的可行方法之一,Wei 等^[16]利用电化学法成功制备了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ 复合材料。在实验中,酚羟基和羧酸基团的电离使氧化石墨烯纳米片在水介质中分散,并带有高度负电荷,与此同时,加入表面带有正电荷的 Fe_3O_4 ,而后通过电化学方法制备磁性石墨烯复合材料。该制备过程无污染,反应易于控制,操作工艺简单,合成过程快速,但此法制成的复合材料中 Fe_3O_4 与石墨烯之间的键合作用较弱^[17]。

1.5 化学接枝法

化学接枝法,又称为共价功能法,是一种用于实现磁性纳米颗粒和石墨烯表面接枝的方法。该方法将改性的磁性颗粒和石墨烯通过化学键结合起来,从而增加磁性纳米石墨烯复合材料的稳定性,进一步改善其性能。Hu 等^[18]利用此方法将乙二胺接枝到磁性氧化石墨烯上,成功合成了 $\text{EDA-GO}@ \text{Fe}_3\text{O}_4$ 复合材料,实验结果表明,改性后的 $\text{EDA-GO}@ \text{Fe}_3\text{O}_4$ 对 $\text{Cr}(\text{VI})$ 离子的吸附能力明显高于未改性的 $\text{GO}@ \text{Fe}_3\text{O}_4$ 。此外,在实验过程中发现,随着 pH 值的增加, $\text{EDA-GO}@ \text{Fe}_3\text{O}_4$ 的吸附能力显著下降,这一现象可以归因于 pH 值对 $\text{EDA-GO}@ \text{Fe}_3\text{O}_4$ 的表面结合位点和水化学的影响。化学接枝法制备磁性石墨烯复合材料的工艺相对复杂,产率较低。

1.6 溶胶-凝胶法

溶胶-凝胶法是制备磁性石墨烯复合材料的一种较为重要的化学方法,其主要步骤包括选择制备金属化合物,使凝胶固化形成复合材料。具体而言,首先在溶剂中分散磁性金属盐,使其与石墨烯均匀混合,而后通过添加交联剂或调整溶液

的 pH 值,形成具有网络结构的凝胶。最后,通过干燥和固化得到磁性石墨烯复合材料。采用溶胶-凝胶法制备磁性石墨烯复合材料的过程易于控制、合成温度低、组分分布均匀、制得的磁性石墨烯材料纯度高、反应活性高^[19]。但该方法的制备时间较长,原料成本相对较高。

1.7 化学共沉淀法

化学共沉淀法是一种用于制备磁性石墨烯复合材料的重要方法。它通过在含有石墨烯的金属盐溶液中加入沉淀剂,使磁性纳米颗粒直接沉积在石墨烯表面,并通过最终处理步骤得到复合材料。在此过程中,溶液的温度、pH 值和反应时间等参数均会影响复合材料的形貌和性质。

Ji 等^[20]使用化学共沉淀法成功制备了磁性石墨烯复合吸附剂(MGO、MrGO),可用于去除黄曲毒素,如图 3 所示。研究发现,Fe₃O₄ 纳米颗粒表面富含羟基,可以通过静电相互作用与氧化石

墨烯的羰基、环氧基和羟基结合,直接沉积在石墨烯表面形成磁性复合材料,且具有较高的结构稳定性^[21]。然而,该方法存在磁性颗粒在石墨烯表面分散不均匀、易团聚的问题。

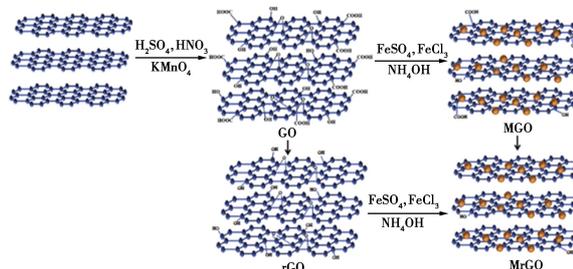


图 3 MGO 和 MrGO 的制备工艺^[20]

Fig.3 Preparation process of MGO and MrGO^[20]

综上所述,磁性石墨烯复合材料的制备方法多种多样,表 1 列出了磁性石墨烯复合材料常见制备方法的优缺点及实例,研究者可根据具体需求选择合适的制备方法。

表 1 磁性石墨烯复合材料常用制备方法对比

Tab.1 Comparison of common preparation methods of magnetic graphene composites

制备方法	优点	缺点	实例
直接磁化法	简单方便	产量、应用范围有限;磁性控制困难	Fe ₃ O ₄ /GO 纳米复合材料 ^[10]
水热法	简单易行、环境友好;可控复合结构	生产周期长;对环境敏感;产率较低	高活性氧化石墨烯/多壁碳纳米管/Fe ₃ O ₄ 三元纳米复合吸附剂 ^[13]
气液界面法	高效可控、均匀复合;应用广泛;高产率	操作复杂;环境污染;设备要求高	Fe ₃ O ₄ /GO 纳米复合材料 ^[15]
电化学法	可控性强;环境友好;均匀复合、简单易行	反应时间长;设备要求高;产率较低	Fe ₃ O ₄ /GO 复合材料 ^[16]
化学接枝法	可控性强;高度复合;结构多样性	反应条件复杂;产率较低;环境污染	EDA-GO@Fe ₃ O ₄ 复合材料 ^[18]
溶胶-凝胶法	均匀复合;环境友好;可控性强;三维结构	反应时间长;设备要求高;产率较低	rGO/TiO 复合材料 ^[22]
化学共沉淀法	操作简单;成本较低;多组分可控性	纯度较低;结构不均匀;反应时间长;难以控制粒径	磁性石墨烯复合吸附剂 ^[20]

2 磁性石墨烯复合材料的应用

磁性石墨烯复合材料兼具磁性纳米材料和石墨烯的优点,具有优异的机械性能、热稳定性、吸附性、超顺磁性等特点^[23],在新能源、生物医学等领域具有重要的应用。

2.1 新能源领域

2.1.1 锂离子电池

随着电池市场的扩大,锂离子电池已成为满足轻量化、长寿命、快速充电和低成本需求的最佳选择之一。在锂离子电池中,正负极材料的性能直接影响其使用性能和安全性。

在正极材料方面,LiFePO₄ 是研究较多的材料之一,LiFePO₄ 与石墨烯的复合材料具有良好的结构稳定性,从而提高了电池的循环稳定性。此外,LiFePO₄ 和石墨烯的复合还能形成良好的

电接触,促进电子的迁移和流通,进而提高了电池的输出功率。

在负极材料方面,Zhou 等^[24]通过在石墨烯纳米片之间原位还原氢氧化铁,成功合成了一种柔性交错石墨烯(GNSs)/Fe₃O₄ 复合材料作为锂离子电池的负极材料,如图 4 所示。实验结果显示,该复合材料在循环测试中表现出较高的可逆比容量。这说明石墨烯/Fe₃O₄ 复合材料能显著提高 Fe₃O₄ 作为锂离子电池负极材料的循环稳定性和速率能力。此外,Wu 等^[25]通过溶剂热法成功制备了 C/Fe₃O₄/rGO 复合材料,其中 Fe₃O₄ 被嵌入到还原氧化石墨烯和导电碳层中形成三维三明治结构。研究表明,该复合材料具有优异的电化学性能和高倍率循环性能,并且具备赝电容特性,适合作为锂离子电池的负极材料。

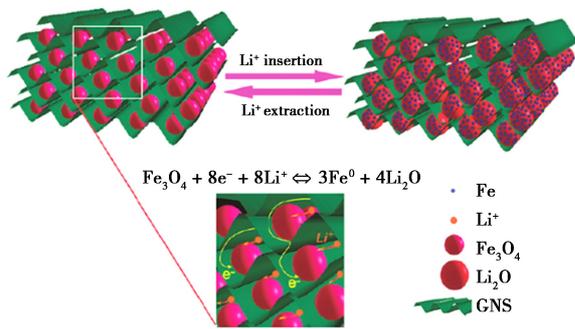


图 4 GNSs 和 Fe_3O_4 粒子组成的柔性交错结构示意图^[24]

Fig.4 Schematic diagram of the flexible interleaved structure composed of GNSs and Fe_3O_4 particles^[24]

2.1.2 钠离子电池

钠离子电池(SIBs)因其低成本和丰富的资源而受到广泛关注,被视为锂离子电池(LIBs)的一种有前景的替代品^[26-30]。在可充电钠离子电池中,电极材料对于电池实现高容量和超长循环寿命起着至关重要的作用。

Zhang 等^[31]通过一锅湿化学方法成功制备了 $\text{Ni}_3\text{S}_2/\text{GO}$ 复合材料,用作钠离子电池的负极材料。在经过多次循环后,电池显示出优异的循环性能和倍率性能。在 0.1 A/g 条件下循环 50 次后,充放电容量可达 249.2 mAh/g,这得益于小尺寸 Ni_3S_2 纳米颗粒和均匀的氧化石墨烯片之间的协同作用。Ma 等^[32]通过静电组装和热退火处理,成功合成了 $\text{NVPOF}@ \text{rGO}$ 磁性纳米复合材料,用作钠离子电池的正极材料。研究结果显示,在 rGO 纳米片的协同作用下, $\text{NVPOF}@ \text{rGO}$ 材料的表面动力学得到了改善,极化减少,速率能力和周期稳定性提高。此外,rGO 纳米片的辅助作用还显著提高了钠离子在 $\text{NVPOF}@ \text{rGO}$ 中的扩散系数,该研究为提高钠离子电池的性能提供了有价值的参考。

2.1.3 铝离子电池

铝是地壳中含量第三丰富的元素,具有较高的理论比容量,在能源领域具有较为广泛的应用前景。然而,铝离子电池在充放电过程中存在电压低、循环寿命差以及电极分解等问题,限制了其在储能设备中的应用^[33-35]。随着储能需求的增长,我们亟需开发新型高性能正极材料,以改进可充电铝离子电池的性能。Tu 等^[36]通过水热法和磷化工艺成功制备了一种 $\text{Ni}_2\text{P}/\text{rGO}$ 磁性纳米片,用作铝离子电池的正极材料。研究表明,

在 100 mA/g 的电流密度下, $\text{Ni}_2\text{P}/\text{rGO}$ 纳米片的首次放电容量为 274.5 mAh/g,经过 500 次循环后仍保持在 73.0 mAh/g,库仑效率为 93.5%。与纯 Ni_2P 相比, $\text{Ni}_2\text{P}/\text{rGO}$ 磁性纳米复合材料展示出更高的放电容量和更好的循环稳定性,显著提高了铝离子电池的电化学活性和储能能力。

2.1.4 超级电容器

磁性石墨烯复合材料是一种具有独特化学结构和出色性能的材料,被视为理想的超级电容器电极材料。然而,如何高效制备具有循环稳定性和高功率性能的超级电容器仍是电容器领域亟需解决的问题。

研究人员目前主要关注混合超级电容器的研究,该电容器由复合电极材料和不对称或电池型电极结构组成。Xia 等^[37]研究制备了 $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{石墨烯纳米带}$,将其作为非对称超级电容器的正极材料。这种复合材料具有优异的磁性、电学和光学性质,并具有较高理论比容量和良好的循环稳定性。此外,研究表明, CoFe_2O_4 与石墨烯纳米带之间的协同效应和材料的优异特性使得非对称超级电容器具有高能量密度和高功率密度,因此被认为是具有前景的电极材料。此外,He 等^[38]的研究表明通过将 CoFe_2O_4 纳米颗粒与还原氧化石墨烯复合,可以提高超级电容器的循环稳定性和比电容。这些研究为超级电容器的制备和性能提升提供了有益的参考。

综上所述,磁性石墨烯复合材料在电池和超级电容器领域具有较大的应用潜力。通过利用磁性石墨烯复合材料的导电性、磁性以及高比表面积等特性,可以提高电池和超级电容器的性能及能量存储能力,从而推动磁性石墨烯复合材料在新能源领域的发展和创新。

2.2 光催化领域

近年来,光催化技术在废水处理领域得到了广泛应用,被认为是环保高效的技术。该技术利用金属氧化物半导体或异质结构,在光照下降解有机污染物。为了更有效地进行环境修复,研究人员致力于开发对可见光响应活跃的高性能光催化剂。这一领域目前是光催化研究中备受关注的课题之一。

Fu 等^[39]设计了一种简单的策略,利用水热法合成了 CuFe_2O_4 -石墨烯异质结构,并成功实现了在可见光照射下高光催化活性的效果。 CuFe_2O_4 纳米颗粒本身具有优异的磁性能和独特

的电子价壳构型 ($3d^{10}4s^1$)。通过与另一种半导体耦合,可以提高 CuFe_2O_4 的光诱导电荷分离效率,从而增强光催化性能。光催化活性测量结果显示, CuFe_2O_4 与石墨烯的结合能够使惰性的 CuFe_2O_4 在可见光照射下迅速转化为高活性的亚甲基蓝 (MB) 降解催化剂。此外,二者复合产生的卓越光催化活性表明, CuFe_2O_4 纳米片与石墨烯之间存在明显的协同效应。

2.3 生物学领域

2.3.1 生物传感器

生物传感器是一种用于检测微量生物分子、细胞和 DNA 等的重要工具。磁性石墨烯复合材料的高导电性、高表面积、良好的生物相容性和可控的磁性等优点,使其能够提高传感器的灵敏度和选择性^[40,41],在生物传感器领域有着广泛的应用前景。

还原型磁性石墨烯复合材料在生物传感器中具有重要应用。它提供了生物相容性微环境,同时易于受磁场控制。Lin 等^[42]研究发现,将磁性石墨烯复合材料修饰在金电极上可以用于检测血管内皮生长因子,为癌症诊断提供了一种可靠、快速、高选择性的检测工具。此外,鸟嘌呤和腺嘌呤作为多种疾病的检测指标,与心率失常预防、血流量控制和腺苷酸环化酶活性等因素相关^[43],生物传感器的出现可以检测这些相关因素的变化,从而有效预防疾病的发生。

2.3.2 药物靶向治疗

目前,在癌症化疗中,化疗药物无法区分正常细胞和癌细胞^[44],因此将化疗药物递送到靶向部位,对于减少药物的副作用并提高药物在特定细胞中的治疗效果至关重要^[45]。基于磁性石墨烯的纳米材料,特别是具有反应性刺激和选择性给药特性的磁性石墨烯纳米载体已经成为一种潜在的选择。磁性石墨烯纳米载体具有良好的磁性,能够通过外加磁场控制药物的递送。

Elham 等^[46]研究设计了一种基于磁性的靶向多功能抗癌药物载体,通过将姜黄素 (Curcumin)、石墨烯量子点 (GQDs)、磁性纳米复合材料 (Fe_3O_4) 和叶酸 (FA) 结合,实现了靶向治疗癌细胞的高效性,如图 5 所示。实验结果表明,纳米载体具有超顺磁性行为,可通过外加磁场将药物导向癌变肿瘤部位,同时对健康组织无损伤。此外,细胞毒性实验表明,纳米载体具有选择性靶向作用,对癌细胞具有高毒性,而对正常细胞无害。这

一研究为治疗应用中的新型药物输送系统提供了有潜力的候选方案。

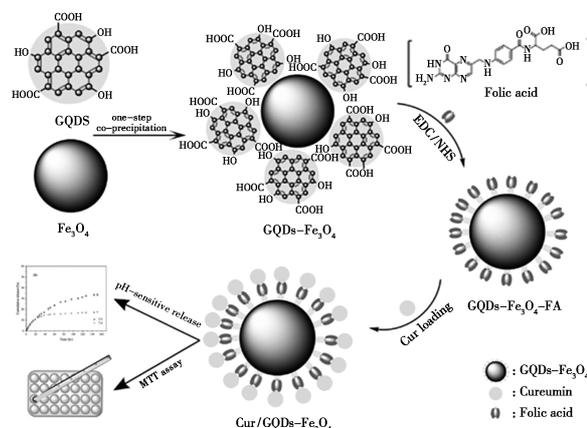


图 5 GQDs- Fe_3O_4 -FA 合成及姜黄素负载示意图^[46]

Fig.5 Schematic diagram of GQDs- Fe_3O_4 -FA synthesis and curcumin loading^[46]

2.4 其他领域

2.4.1 微波吸收

随着 5G 技术的迅猛发展,不良电磁辐射对人类健康和军事隐身已造成严重威胁^[47,48]。因此,迫切需要开发高效吸收微波的材料^[49],以应对这一挑战。然而,单组分吸波材料存在密度大等缺陷,难以满足薄、轻、宽、强的要求。为了解决这个问题,磁性合金/化合物与碳材料自组装形成的纳米复合材料引起广泛关注。

Wang 等^[50]通过两步水热法制备了 ZnO 掺杂磁性石墨烯复合材料,并进行了微观结构和成分的表征。研究发现,在球-片和球-球相互作用下, ZnO 片与 Fe_3O_4 球形成了紧密重叠的结构,增强了复合材料的微波吸收性能。复合材料在 8.96 GHz 频率下表现出最小的反射损耗为 -53.96 dB,吸波厚度为 1.81 mm,且能够在 5.2~18 GHz 范围内进行灵活调谐。第一性原理计算结果显示, ZnO 的改性提高了复合材料的吸波能力。

对吸波材料的设计而言,协同优化衰减常数

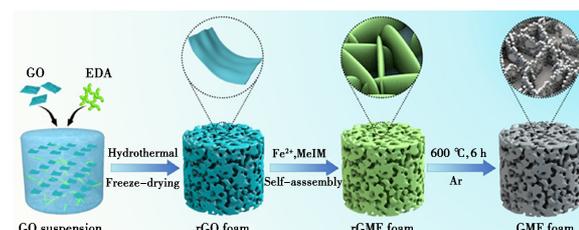


图 6 GN/ Fe_2O_3 (GMF) 复合泡沫的制备示意图^[51]

Fig.6 Schematic diagram of the preparation of GN/ Fe_2O_3 (GMF) composite foam^[51]

和阻抗间的关系一直是一个很大的挑战。Li 等^[51]通过还原氧化石墨烯骨架中的金属有机框架(MOF),成功构建了分层多孔石墨烯/三氧化铁磁性复合泡沫(GMF),如图 6 所示。这种复合泡沫具有优化的阻抗梯度和衰减常数,且具有优异的带宽(6.23 GHz)和吸收能力(-60.13 dB)。

2.4.2 吸收重金属离子

随着工业化的快速发展,重金属离子污染也日益严重。重金属离子难以被生物降解,且长时间的积累会对环境和有机体产生危害^[52,53]。磁性石墨烯复合材料具有比表面积大、吸附率高等优点,因此对于吸附重金属离子有着不可估量的作用^[54-56]。

近年来,有许多研究者探究磁性石墨烯复合材料对重金属离子的吸附性能。毕玉玺等^[57]探究了磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{TiO}_2/\text{GO}$ 复合材料对 $\text{U}(\text{VI})$ 的吸附性能。实验结果表明,在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{TiO}_2/\text{GO}$ 复合材料质量为 10 mg,吸附时间为 180 min 时,吸附反应达到最佳,吸附率为 99.37%。此外,磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{TiO}_2/\text{GO}$ 复合材料对 $\text{U}(\text{VI})$ 的吸附是非单层吸附,吸附率高,这是因为二者之间主要通过化学键合作用实现吸附。因此,磁性石墨烯复合材料作为吸附剂,对于重金属离子具有良好的富集能力。

上述分析表明,磁性石墨烯复合材料具有高效吸附重金属离子的能力,这为解决重金属离子污染问题提供了一种有效的途径。

3 结语及展望

磁性石墨烯复合材料由于其自身组合特点,在各大领域都具有广阔的发展和应用前景。本文系统总结了近年来国内外磁性石墨烯复合材料的主要制备方法和应用研究进展,列举了部分实验实例,简要说明了不同制备方法的优缺点。

近年来,研究人员通过不断创新和改进制备方法,为磁性石墨烯复合材料的发展开辟了更多可能性。这些材料在新能源、生物医学、微波吸收、重金属离子吸附等领域展现出了优异的性能和潜力。然而,磁性石墨烯复合材料在制备过程中仍面临一些挑战,如磁性颗粒易发生团聚、石墨烯的生物安全性需进一步验证、复合材料的稳定性、导电性、磁性的进一步优化以及杂质控制等问题。

为了更好的提高磁性石墨烯复合材料的性

能,研究人员可以通过调控形貌结构、优化制备方法、调整实验参数、加强磁性石墨烯表面改性、增加吸附位点数量、引入其他功能材料等手段进行改进。此外,针对不同领域的需求,研究人员可以开发新的制备方法、研究新的材料组分、设计新的具有特殊功能的复合材料结构:(1)通过精确调控石墨烯的结构和磁性纳米颗粒的分散度,进一步优化复合材料的磁性和导电性能,从而提升其在磁性传感器、磁存储器 and 电磁屏蔽等领域的应用潜力。(2)通过研发可再生的磁性纳米颗粒和可回收的石墨烯材料,减少材料的环境影响,并提高其在可持续能源领域的应用潜力。(3)结合石墨烯的导电性和磁性纳米颗粒的磁性,探索磁性石墨烯复合材料的多功能性,拓宽其在电子器件、柔性电子学和智能纳米系统等领域的应用。

综上,磁性石墨烯复合材料的发展需要研究人员不断地突破创新,以便将来投入更广泛的应用,为人类社会的可持续发展做出更大的贡献。

参考文献:

- [1] CHEN W, XIAO H, HOU L Y, et al. A flexible composite film electrode and supercapacitor based on combined effect between graphene oxide and graphene [J]. *Mater. Sci. Eng. B*, 2023, **297**: 116-124.
- [2] SERGIO N, AMARAJOTHI D, MERCEDES A, et al. Carbocatalysis by graphene-based materials [J]. *Chem. Rev.*, 2014, **114**(12): 6179-6212.
- [3] DMITRI G, YOSHIO B, HUANG Y, et al. Boron nitride nanotubes and nanosheets [J]. *ACS Nano*, 2010, **4**(6): 2979-2993.
- [4] EUNJOO Y, JEDEOK K, EIJI H, et al. Large reversible Li storage of graphene nanosheet families for use in rechargeable lithium ion batteries [J]. *Nano Lett.*, 2008, **8**(8): 2277-2282.
- [5] KH H, ERFANI M M A, ASADI A, et al. Effect of two different fins (longitudinal-tree like) and hybrid nanoparticles ([formula omitted]) on solidification process in triplex latent heat thermal energy storage system [J]. *Alexandria Eng. J.*, 2021, **60**(1): 1967-1979.
- [6] JOY A, UNNI K G, MEGHA M, et al. A novel combination of graphene oxide/palladium integrated polycaprolactone nanocomposite for biomedical applications [J]. *Diam. Relat. Mater.*, 2023, **136**: 110-133.
- [7] HAI W Q, CHEN C H, YU Q H, et al. Sandwich structure electromagnetic interference shielding composites based on Fe_3O_4 nanoparticles/PANI/laser-induced graphene

- with near-zero electromagnetic waves transmission[J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2023, **637**: 157-975.
- [8] LI Y X, DONG X Y, ZHAO L S. Application of magnetic chitosan nanocomposites modified by graphene oxide and polyethyleneimine for removal of toxic heavy metals and dyes from water [J]. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2021, **192**: 118-125.
- [9] JAFAR M M. Magnetic graphene, synthesis, and applications; A review [J]. *Mater. Sci. Eng. B*, 2021, **272**: 115-325.
- [10] HAN Q, WANG Z H, XIA J F, et al. Facile and tunable fabrication of Fe₃O₄/graphene oxide nanocomposites and their application in the magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples [J]. *Talanta*, 2012, **101**: 388-395.
- [11] ZHU J Y, ZHU Y Y, CHEN Z, et al. Progress in the preparation and modification of zinc ferrites used for the photocatalytic degradation of organic pollutants [J]. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2022, **19**(17): 10-710.
- [12] 贾海鹏, 苏勋家, 候根良, 等. 石墨烯基磁性纳米复合材料的制备与微波吸收性能研究进展 [J]. *材料工程*, 2013, (5): 89-93; 100.
- [13] LONG Z H, ZHAN Y Q, LI F, et al. Hydrothermal synthesis of graphene oxide/multiwalled carbon nanotube/Fe₃O₄ ternary nanocomposite for removal of Cu(II) and methylene blue [J]. *J. Nanopart. Res.*, 2017, **19**(9): 1-16.
- [14] GAN L, SHANG S M, YUAN Z H, et al. Hydrothermal synthesis of magnetic CoFe₂O₄/graphene nanocomposites with improved photocatalytic activity [J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2015, **351**: 140-147.
- [15] LIAN P C, ZHU X F, XIANG H F, et al. Enhanced cycling performance of Fe₃O₄-graphene nanocomposite as an anode material for lithium ion batteries [J]. *Electrochim. Acta*, 2010, **56**(2): 834-840.
- [16] WEI H, YANG W S, XI Q, et al. Preparation of Fe₃O₄@graphene oxide core-shell magnetic particles for use in protein adsorption [J]. *Mater. Lett.*, 2012, **82**: 224-226.
- [17] ZHANG W J, YANG G Z, WANG X S, et al. Magnetically controlled growth-factor-immobilized multilayer cell sheets for complex tissue regeneration [J]. *Adv. Mater.*, 2017, **29**(43): 1-703-795.
- [18] HU X J, XU J W, WU C Y, et al. Ethylenediamine grafted to graphene oxide@Fe₃O₄ for chromium(VI) decontamination: Performance, modelling, and fractional factorial design [J]. *Plos One*, 2017, **12**(10): 0-187-166.
- [19] 柏杉山. 磁性石墨烯材料的制备及去除水中重金属的研究进展 [J]. *工业安全与环保*, 2022, **48**(3): 93-98.
- [20] JI J M, XIE W L. Detoxification of aflatoxin B₁ by magnetic graphene composite adsorbents from contaminated oils [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **381**(C): 120-915.
- [21] 张文博, 李思纯, 马建中, 等. 氧化石墨烯/天然高分子复合吸附材料在水处理中的应用 [J]. *精细化工*, 2021, **38**(4): 683-693.
- [22] 任建, 李光照, 韩锐, 等. 溶胶-凝胶法原位制备还原氧化石墨烯/二氧化钛复合材料及光催化性能 [J]. *功能材料*, 2019, **50**(7): 7-185-7-190; 7-198.
- [23] 耿佳琦, 门园丽, 刘晨, 等. 磁性石墨烯复合材料制备与应用研究进展 [J]. *化工进展*, 2022, **41**(1): 277-285.
- [24] ZHOU G M, WANG D W, LI F. Graphene-wrapped Fe₃O₄ anode material with improved reversible capacity and cyclic stability for lithium ion batteries [J]. *Chem. Mater.*, 2010, **22**(18): 5-306-5-313.
- [25] WU Q C, JIANG R L, LIU H W. Carbon layer encapsulated Fe₃O₄@reduced graphene oxide lithium battery anodes with long cycle performance [J]. *Ceram. Int.*, 2020, **46**(8): 12-732-12-739.
- [26] WANG Y, LIN Y W, HUANG S Z, et al. Enhanced sodium storage kinetics by volume regulation and surface engineering via rationally designed hierarchical porous FeP@C/rGO [J]. *Nanoscale*, 2020, **12**(7): 4-341-4-351.
- [27] GUO J L, ZHAO S Y, SHEN Y L, et al. "Room-like" TiO₂ array as a sulfur host for lithium-sulfur batteries: Combining advantages of array and closed structures [J]. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2020, **8**(20): 7-609-7-616.
- [28] GUO J L, DU X Y, ZHANG X L, et al. Facile formation of a solid electrolyte interface as a smart blocking layer for high-stability sulfur cathode [J]. *Adv. Mater.*, 2017, **29**(26): 1-700-273.
- [29] DENG L Y, LI W Y, LI H N, et al. A hierarchical copper oxide-germanium hybrid film for high areal capacity lithium ion batteries [J]. *Front. Chem.*, 2019, (7): 869.
- [30] XU J M, TANG H B, XU D D, et al. Porous NiO hollow quasi-nanospheres derived from a new metal-organic framework template as high-performance anode materials for lithium ion batteries [J]. *Ionics*, 2017, **23**(12): 3-273-3-280.
- [31] ZHANG Y H, LIU R H, XU L J, et al. One-pot synthesis of small-sized Ni₃S₂ nanoparticles deposited on graphene oxide as composite anode materials for high-performance lithium/sodium-ion batteries [J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2020, **531**: 147-316.
- [32] MA K Y, XU T T, YAN Q K, et al. Mechanism investigation of high performance Na₃V₂(PO₄)₂O₂F/reduced

- graphene oxide cathode for sodium-ion batteries [J]. *J. Power Sources*, 2021, **482**: 228-906.
- [33] ANTONIO G E, KRISTAN M, KATRIN H, et al. An overview and future perspectives of aluminum batteries [J]. *Adv Mater.*, 2016, **28**(35): 7 564-7 579.
- [34] FILIP A, THOMAS J M, THOMAS N. Trends in aluminum-based intercalation batteries [J]. *Adv. Energy Mater.*, 2017, **7**(15): 1 602-093.
- [35] ALI Z Z, SUMAIR I, RAMEEZ R, et al. Cathode materials for rechargeable aluminum batteries: Current status and progress [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2017, **5**(12): 5 646-5 660.
- [36] TU J G, WANG M Y, XIAO X, et al. Nickel phosphide nanosheets supported on reduced graphene oxide for enhanced aluminum-ion batteries [J]. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2019, **7**(6): 6 004-6 012.
- [37] XIA C L, REN T Y, ROZHIN D, et al. Spotlighting the boosted energy storage capacity of CoFe_2O_4 /Graphene nanoribbons: A promising positive electrode material for high-energy-density asymmetric supercapacitor [J]. *Energy*, 2023, **270**: 126 914.
- [38] HE P, YANG K, WANG W, et al. Reduced graphene oxide- CoFe_2O_4 composites for supercapacitor electrode [J]. *Electrochemistry*, 2013, **49**(4): 359-364.
- [39] FU Y S, HE M Y. Copper ferrite-graphene hybrid: A multifunctional heteroarchitecture for photocatalysis and energy storage [J]. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2012, **51**(36): 11 700-11 709.
- [40] SHU J, QIU Z, ZHOU Q, et al. Enzymatic oxydate-triggered self-illuminated photoelectrochemical sensing platform for portable immunoassay using digital multimeter [J]. *Anal. Chem.*, 2016, **88**(5): 2 958-2 966.
- [41] LI F Y, GU Q, NIU Y, et al. Hydrogen evolution from aqueous phase photocatalytic reforming of ethylene glycol over Pt/TiO₂ catalysts: Role of Pt and product distribution [J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2017, **391**: 251-258.
- [42] LIN C W, WEI K C, LIAO S S, et al. A reusable magnetic graphene oxide-modified biosensor for vascular endothelial growth factor detection in cancer diagnosis [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2015, **67**: 431-437.
- [43] HUANG K J, WANG L, WANG H B, et al. Electrochemical biosensor based on silver nanoparticles-polydopamine-graphene nanocomposite for sensitive determination of adenine and guanine [J]. *Talanta*, 2013, **114**: 43-48.
- [44] ANGELO P, GARET H V, CHRISTOPHE B, et al. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part 1—Cytotoxics [J]. *Eur. J. Cancer*, 2014, **50**(12): 2 010-2 019.
- [45] EDGAR P H, ALBERTO F M. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy [J]. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2015, **93**: 52-79.
- [46] ELHAM S Z, NARGES G, ZEINAB S, et al. Smart pH-responsive magnetic graphene quantum dots nanocarriers for anticancer drug delivery of curcumin [J]. *Mater. Chem. Phys.*, 2023, **297**: 127 336.
- [47] LI Y L, GAO X P, WANG M, et al. Annealed covalent organic framework thin films for exceptional absorption of ultrabroad low-frequency electromagnetic waves [J]. *Small*, 2022, **18**(50): 2 205 400.
- [48] BORA P J, MAHANTA B, RAMAMURTHY P C. Optimization of polyaniline nanofiber loading in polymer matrix for strong microwave absorption using materials data-driven discovery [J]. *Compos. Commun.*, 2022, **35**: 101 289.
- [49] CHENG T T, GUO Y Y, XIE Y X, et al. Customizing the structure and chemical composition of ultralight carbon foams for superior microwave absorption performance [J]. *Carbon*, 2023, **206**: 181-191.
- [50] WANG X Y, LIA Y, WEI S C, et al. Preparation and absorbing property analysis of ZnO-doped magnetic graphene composite material [J]. *J. Magn. Magn. Mater.*, 2022, **556**: 169 450.
- [51] LI S S, MA T T, CHAI Z Y, et al. Graphene-based magnetic composite foam with hierarchically porous structure for efficient microwave absorption [J]. *Carbon*, 2023, **207**: 105-115.
- [52] 李歆悦, 孔丹丹, 闫卉欣, 等. DNA 电化学生物传感器在重金属快速检测中的研究进展 [J]. *分析实验室*, 2021, **40**(5): 605-612.
- [53] 刘义, 张淑琴, 任大军, 等. 不同官能团改性壳聚糖吸附重金属的研究进展 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(4): 495-503.
- [54] 丛真成, 陈德军, 郭皓, 等. 磁性石墨烯海绵复合材料的制备及其油水分离性能 [J]. *精细石油化工*, 2023, **40**(3): 21-24.
- [55] 柏杉山, 王利红. 功能化磁性石墨烯去除水中有机物的研究进展 [J]. *现代化工*, 2022, **42**(9): 91-96.
- [56] FENG Y H, SU X W, CHEN Y, et al. Research progress of graphene oxide-based magnetic composites in adsorption and photocatalytic degradation of pollutants: A review [J]. *Mater. Res. Bull.*, 2023, **162**: 112 207.
- [57] 毕玉玺, 凌辉, 唐振平, 等. 磁性介孔 TiO₂/氧化石墨烯复合材料的制备及其对 U(VI) 的吸附 [J]. *复合材料学报*, 2019, **36**(9): 2 176-2 186.

生化与药用试剂

天花粉粗多糖壳聚糖复合水凝胶促进小鼠皮肤伤口愈合

吴燕,寇先勇,王峣姿,刘同,刘馨月,尤祥宇*,苏江涛

(湖北工业大学 生物工程与食品学院,湖北 武汉 430068)

摘要:以天花粉粗多糖(TRP)和壳聚糖(CS)为基质、柠檬酸(CA)为交联剂制备复合水凝胶作为伤口敷料促进小鼠皮肤伤口快速愈合。采用水提醇沉法提取天花粉粗多糖、三氯乙酸法除蛋白进行纯化;通过一步冻融法制备 TRP 水凝胶;通过傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、扫描电镜(SEM)和质构分析揭示了 TRP 水凝胶的结构、形貌和机械性能;测定了 TRP 抗氧化能力以及 TRP 水凝胶的溶胀性能、溶血率;采用小鼠全皮层损伤模型研究了 TRP 水凝胶促进伤口愈合的能力。结果表明 TRP 水凝胶最大抗压强度为 13.79 kPa,溶胀度为 12.41;TRP 和 TRP 水凝胶均具有较低的溶血率,TRP 溶血率最高为 1.29%,TRP6 水凝胶(TRP 含量为 6 mg/mL)的溶血率为 2.36%;TRP 表现出良好的抗氧化活性,能有效清除多种自由基;在小鼠全皮层损伤修复实验中,TRP 水凝胶组小鼠的愈合速度最快,H&E 染色结果表明 TRP 水凝胶能更好的促进小鼠皮肤伤口处的毛囊再生和皮肤组织重建。研究表明 TRP 水凝胶在伤口敷料应用方面具有巨大潜力。

关键词:天花粉粗多糖;壳聚糖;水凝胶;抗氧化;伤口愈合

中图分类号:TS206 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)12-0026-07

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0602

Trichosanthin Polysaccharide Chitosan Composite Hydrogel Promotes Skin Wound Healing in Mice WU Yan, KOU Xian-yong, WANG Yao-zi, LIU Tong, LIU Xin-yue, YOU Xiang-yu*, SU Jiang-tao (School of Food and Biological Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

Abstract: The composite hydrogel was prepared using trichosanthin polysaccharide (TRP), chitosan (CS), and citric acid (CA) as a crosslinking agent and utilized as a wound dressing to encourage mice's skin wounds to heal quickly. TRP was isolated utilizing the methods of water extraction, alcohol precipitation, and protein removal with trichloroacetic acid. TRP hydrogel was designed using a one-step freeze-thaw procedure, and its structure, morphology, and mechanical properties were reveal using fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM), and texture analysis. In addition, the antioxidant capacity of TRP, as well as the swelling property and hemolysis rate of TRP hydrogel, were measured, and the effectiveness of TRP hydrogel as a wound dressing in promoting wound healing was investigated. According to the results, TRP hydrogel had a maximum compressive strength of 13.79 kPa and a swelling rate of 12.41. Both TRP and TRP hydrogel had a low hemolysis rate, the highest hemolysis rate of TRP was 1.29%, and the hemolysis rate of TRP6 hydrogel (TRP content: 6 mg/mL) was 2.36%. TRP displayed good antioxidant activity and could effectively scavenge various free radicals. Throughout the full-thickness trauma mouse model, and H&E staining results showed that TRP hydrogel could promote the hair follicle regeneration and tissue reconstruction of mice skin wounds better. In conclusion, these results suggest that TRP hydrogel has a promising future in wound healing as a wound dressing.

Key words: trichosanthin polysaccharides; chitosan; hydrogel; antioxidant; wound healing

皮肤是人体最重要的保护层,常易遭受外界侵害形成各类伤口,因此利用伤口敷料以掩盖伤口、防止伤口感染甚至促进伤口修复是非常必要

的。水凝胶是富含水和促进物质交换的多孔结构、具有可调节的力学性能或良好的生物相容性,是一种理想的伤口敷料^[1]。目前,许多聚合物已

收稿日期:2023-09-14;网络首发日期:2023-10-16

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81703409)。

作者简介:吴燕(1998-),女,湖北孝感人,硕士生,主要研究方向为传统中药新应用。

通讯作者:尤祥宇, E-mail: youxiangyu@hbut.edu.cn。

引用本文:吴燕,寇先勇,王峣姿,等.天花粉粗多糖壳聚糖复合水凝胶促进小鼠皮肤伤口愈合[J].化学试剂,2023,45(12):26-32。

被用作制备水凝胶,如具有良好生物相容性及生物可降解性的天然聚合物壳聚糖(CS)、纤维素、透明质酸和海藻酸盐等,具有优异力学性能的合成聚合物聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚甲基丙烯酸酯(PMMA)等^[2]。CS是由甲壳素脱乙酰制得的碱性多糖,含有大量羟基和氨基基团,可用来制备基于氢键、静电相互作用、共价键结合等物理或化学交联原理的水凝胶。CS基水凝胶对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等具有良好的抗菌活性^[3],在骨修复^[4]、皮肤修复^[5]、口腔和医学美容^[6]等领域已得到了广泛的研究。柠檬酸(CA)是一种在新陈代谢中起重要作用的三元酸,广泛用于食品、化工、医药等领域^[7]。CA与CS可通过酰胺反应交联形成水凝胶,能进一步拓展CS水凝胶的生物学应用。

天花粉为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii Maxim.* 的干燥根,具有清热泻火、生津止渴、消肿排脓的功效,用于肺热燥咳、内热消渴、疮疡肿毒等症^[8]。天花粉主要活性物质为多糖类、蛋白质、皂苷和氨基酸等,具有降血糖、抗肿瘤、抗炎和抑菌等多种药理活性^[9]。天花粉多糖(Trichosanthin Polysaccharide, TRP)为粗多糖,含多种多糖组分,研究表明TRP的单糖成分至少有鼠李糖、阿拉伯糖、果糖、木糖、葡萄糖和半乳糖等^[10];屠婕红等^[11]经过水提醇沉法提取及多步柱纯化后得到精制天花粉活性多糖 RTPS-1,其相对分子质量(M_r)为 17.56,进一步分析表明 RTPS-1 是由葡萄糖组成的均多糖。TRP 具有增强免疫和抑制肿瘤细胞生长的作用。刘景田等^[12]研究发现,TRP 能提高红细胞膜相 CD35 的活性,进而调节和增强红细胞免疫功能。赵桂珠等^[13]研究发现,TRP 可促进人外周单核细胞的增殖,并能显著抑制肿瘤细胞 MCF-7 和 HeLa 细胞的生长。关于 TRP 是否能够促进伤口愈合,相关研究目前还未曾见报道。

本研究综合利用 TRP 和 CS,制备 TRP 复合水凝胶;研究 TRP 水凝胶的结构、溶胀度和力学性能;同时,通过体外实验和小鼠全皮层损伤模型对 TRP 水凝胶的生物相容性、促进伤口愈合能力进行评价。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

K5200G 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器

有限公司);R213B 型旋转蒸发器(上海申科科技有限公司);6S 型双光束紫外-可见分光光度计(上海优科仪器有限公司);EPOCH 型多功能酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);TA.XT.Plus 型质构分析仪(英国 SMS 仪器有限公司);JSM 6390 LV 型扫描电子显微镜(日本电子株式会社);Nicolet iS 10 型傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);H1850R 型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪仪器开发有限公司);SCIENTZ-18N 型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技有限公司)。

天花粉中药材(康美药业股份有限公司);2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH,纯度 96%)、2,2-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐(ABTS,纯度 98%)、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton-X100,纯度 $\geq 99.5\%$)、壳聚糖($M_w = 300\ 000$)(上海麦克林生化科技有限公司);L-抗坏血酸、硫酸亚铁($FeSO_4$)、水杨酸、乙醇(C_2H_5OH)、乙酸(CH_3COOH)、柠檬酸($C_6H_8O_7$)、三氯乙酸($C_2HCl_3O_2$)、过氧化氢(H_2O_2)(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);无菌抗凝兔血(广州鸿泉生物科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 TRP 的提取与纯化

干燥的天花粉粉碎后过 600 目筛,称取 100 g,加入 25 倍体积去离子水,50 °C 超声提取两次,每次 40 min。合并提取液,经真空抽滤后,将滤液置于 50 °C,使用旋转蒸发器浓缩至约 300 mL,浓缩液中加入 4 倍体积无水乙醇,静置收集沉淀,得粗多糖粗品。

参考许林琴等^[14]方法提纯 TRP。用三氯乙酸法去除蛋白沉淀。上清液经紫外-可见分光光度计检测,在 260 和 280 nm 处均无吸收峰。上清液在去离子水中透析 48 h。浓缩透析液,加入 4 倍体积无水乙醇,静置收集沉淀,沉淀用乙醇和乙醚依次洗涤,冷冻干燥得到白色粉末状 TRP。经苯酚-硫酸法测定 TRP 中多糖含量为 82%。

1.2.2 TRP 水凝胶的制备

如图 1 所示,TRP 水凝胶的制备方法参考 Liu 等^[15]方法并略作修改。以 1.5% 乙酸溶液为溶剂,配制 3% CS 溶液,加入 CA,CA 与 CS 的质量比为 1:5,二者混匀后,加入同体积的不同浓度 TRP 溶液(TRP 浓度:1 mg/mL(TRP1)、2 mg/mL(TRP2)、4 mg/mL(TRP4)、6 mg/mL(TRP6)),TRP0 为未加入 TRP 的空白水凝胶,静置除气泡,

放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻 12 h, 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 解冻, 得到 TRP 水凝胶。

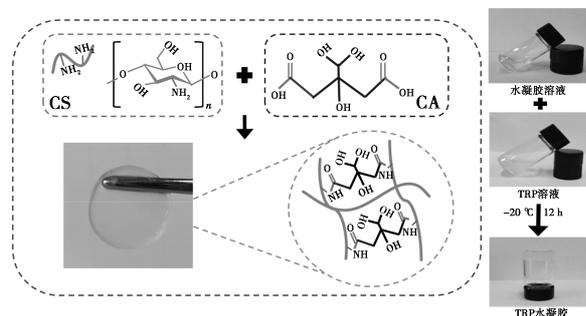


图 1 TRP 水凝胶制备示意图

Fig.1 Schematic diagram for the preparation of TRP hydrogel

1.3 TRP 水凝胶的表征

1.3.1 SEM

TRP 水凝胶冷冻干燥 48 h 后, 将冻干 TRP 水凝胶样品浸入液氮得到断裂截面, 喷金处理后, 使用 JSM 6390LV SEM 系统在 15 kV 电压下观察水凝胶的断裂面。利用 Nano Measurer 软件计算水凝胶的孔径大小并使用 Origin 2021 作图。

1.3.2 FT-IR

TRP 和 TRP 水凝胶冷冻干燥后, 取 2 mg 冻干 TRP 或 TRP 水凝胶样品, 加入 KBr 压片, 在 FT-IR 上以 4 cm^{-1} 的分辨率在 $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 的范围内收集光谱, 扫描 32 次。以空气光谱用作背景, 每个样品光谱都减去背景。

1.3.3 TRP 水凝胶溶胀度检测

将冷冻干燥 TRP 水凝胶样品称重 (W_0) 后置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 中孵育 4 h 后, 将水凝胶表面的水分擦净, 进行称重 (W_1)。按公式 (1) 计算样品的溶胀度。

$$\text{溶胀度 (SD)} = [(W_1 - W_0) / W_0] \times 100 \quad (1)$$

式中, W_1 和 W_0 分别表示 TRP 水凝胶的湿重和干重, g。

1.3.4 TRP 水凝胶压缩性能检测

使用质构仪对 TRP 水凝胶 (制成圆柱形, 高 15 mm, 直径 20 mm) 的压缩性能进行测试。此外, 通过压缩韧性 (J/m^3) 来评价水凝胶的韧性。测试探头以 $30\text{ mm}/\text{min}$ 的速度对水凝胶进行压缩, 测得压缩应力-应变曲线。每组样品至少检测 3 次。

1.4 体外生物活性研究

1.4.1 TRP 体外抗氧化活性测定

1.4.1.1 DPPH 自由基清除率测定

DPPH 自由基清除实验参考高秀等^[16]方法并略作修改。分别配制不同浓度 (4.0、3.0、2.0、

1.0、0.5、0.25、0.125、0.0625 mg/mL) 的 TRP 溶液, 取 3 mL, 后加入 3 mL (0.1 mmol/L) 的 DPPH 乙醇溶液, 在 $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光静置 30 min 后, 使用酶标仪在 517 nm 处测定吸光度值 (A)。分别以去离子水和 Vc 溶液作为阴性和阳性对照。按公式 (2) 计算 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{清除率 (\%)} = \{ [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \} \times 100\% \quad (2)$$

式中, A_0 为去离子水和 DPPH 溶液的吸光度值; A_1 为 TRP 溶液和 DPPH 溶液的吸光度值; A_2 为 TRP 溶液和去离子水的吸光度值。

1.4.1.2 羟基自由基清除率测定

羟基自由基清除实验参考 Zeng 等^[17]方法并略作修改。各取 2 mL 不同浓度的 TRP 溶液, 相继加入 2 mL (9 mmol/L) FeSO_4 溶液、2 mL (9 mmol/L) 水杨酸-乙醇溶液和 2 mL (9 mmol/L) H_2O_2 溶液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min, 冷却至室温后 4500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 使用酶标仪在 510 nm 处测定吸光度值 (A)。分别以去离子水和 Vc 溶液作为阴性和阳性对照。

羟基自由基的清除率类似公式 (2) 计算, 其中 A_0 为去离子水和水杨酸-乙醇显色剂溶液的吸光度值, A_1 为 TRP 溶液和水杨酸-乙醇显色剂溶液的吸光度值, A_2 为 TRP 溶液和去离子水的吸光度值。

1.4.1.3 ABTS 自由基清除率测定

ABTS 自由基清除实验参考 Zeng 等^[17]方法并略作修改。在 5 mL (7 mmol/L) ABTS 溶液中加入 88 mL (140 mmol/L) 过硫酸钾溶液, 黑暗中孵育 16 h, 后用 PBS 稀释至使用酶标仪在 734 nm 处测得其吸光度值为 0.70 ± 0.02 。取 3 mL ABTS 稀释液和 0.2 mL 不同浓度的 TRP 溶液, 孵育 6 min 后立即使用酶标仪在 734 nm 处测定吸光度值 (A)。分别以去离子水和 Vc 溶液作为阴性和阳性对照。

ABTS 自由基的清除率类似公式 (2) 计算, 其中 A_0 为去离子水和 ABTS 溶液的吸光度值, A_1 为 TRP 溶液和 ABTS 溶液的吸光度值, A_2 为 TRP 溶液和去离子水的吸光度值。

1.4.2 TRP 及 TRP 水凝胶溶血率检测

参考 Zheng 等^[18]方法纯化兔红细胞后, 用 PBS 稀释制备兔红细胞悬浮液。称取冻干 TRP 水凝胶样品, 剪碎后置于 PBS 中, 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下溶胀 72 h, 配制得 8、4、2、1 mg/mL 的水凝胶提取液。同上, 以 PBS 为溶剂, 配制上述浓度的 TRP 溶液。

取 0.4 mL 水凝胶提取液或 TRP 溶液,加入 0.1 mL 兔红细胞悬浮液,37 °C 下孵育 2 h 后,2 500 r/min 离心 5 min,取上清液,使用酶标仪在 545 nm 处测定其吸光度值(OD)。分别以 PBS 和 0.2% Triton-X100 红细胞裂解作为阴性和阳性对照。按公式(3)计算溶血率。

$$\text{溶血率}(\%) = [(OD_s - OD_n) / (OD_p - OD_n)] \times 100 \quad (3)$$

式中,OD_s、OD_p、OD_n 分别是样品、阳性对照和阴性对照的吸光度值。

1.5 体内伤口愈合实验

1.5.1 实验动物及分组

实验小鼠为 8 周龄 SPF 级 KM 雄性小鼠,购买自湖北省实验动物研究中心,饲养于武汉赛维尔生物科技有限公司的 SPF 动物房。动物许可证号:SCXF(鄂)2020-0018。小鼠在新环境适应一周后,随机编入实验组、空白水凝胶组和空白对照组(每组 8 只)。

1.5.2 小鼠全皮层损伤模型制备

各组小鼠用乙醚麻醉后,于俯卧位固定,将其背部毛发剃去,手术部位消毒后,用组织剪剪去全皮制备方形创面(约 1×1 cm²)。实验组小鼠背部创面以 TRP 水凝胶覆盖,空白水凝胶组小鼠则以不含 TRP 的空白水凝胶覆盖创面,空白对照组不予凝胶覆盖创面。本研究所涉及的动物处置方案均符合动物伦理学标准,动物实验伦理审查批件编号:赛维尔动(福)第 230 号。

1.5.3 创面愈合观察

术后每天观察小鼠创面处伤口恢复情况并拍照记录。利用 Image J 软件计算小鼠在特定时期内伤口面积,按公式(4)计算伤口愈合率。术后第 15 d,脱颈处死小鼠,取其创面处皮肤组织,进行苏木精-伊红(H&E)染色,在 200 倍和 400 倍放大倍数下拍照后,分析图片。

$$\text{伤口愈合率}(\%) = [(S_0 - S_1) / S_0] \times 100 \quad (4)$$

式中,S₀ 为初始创面面积;S₁ 为特定时期内测量面积。

2 结果与讨论

2.1 TRP 和 TRP 水凝胶 FT-IR 分析

如图 2 所示,在 TRP 的红外光谱图中,宽峰 3 380 cm⁻¹ 处为—OH 的振动峰,2 930 cm⁻¹ 处为—CH₃ 的振动峰,而 1 050 cm⁻¹ 处的强吸收峰为吡喃型糖基;在 TRP 水凝胶的红外光谱中,1 570 cm⁻¹ 处为与酰胺基振动峰相关的信号峰,推测为壳聚糖与柠檬酸分子间相互作用。与 TRP0 水凝胶相比,TRP4 水凝胶中 3 380 cm⁻¹ 附近的峰相对

变宽,2 850~2 920 cm⁻¹ 处峰减弱,推测为 TRP 的引入使水凝胶中含有更多的一OH 导致。

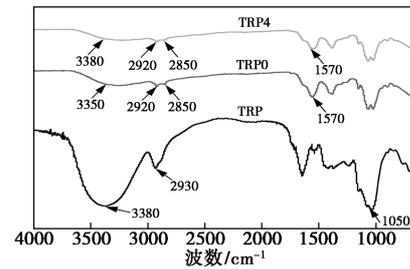


图 2 TRP 和 TRP 水凝胶的 FT-IR 光谱图

Fig.2 FT-IR spectra of TRP and TRP hydrogel

2.2 TRP 水凝胶 SEM 分析

如图 3 所示,随着 TRP 含量的增加,TRP1、TRP2、TRP4 水凝胶相比 TRP0 水凝胶,结构逐渐变得更致密、均匀,3 组水凝胶的孔径也比 TRP0 水凝胶的小,推测这是由于 TRP 分子通过化学交联或物理纠缠与 CS 相互作用导致。但当水凝胶中 TRP 含量进一步提高,TRP6 水凝胶相较 TRP4 水凝胶形态又变得较疏松,孔径变大,这可能是加入过量的多糖导致水凝胶更高的粘度。

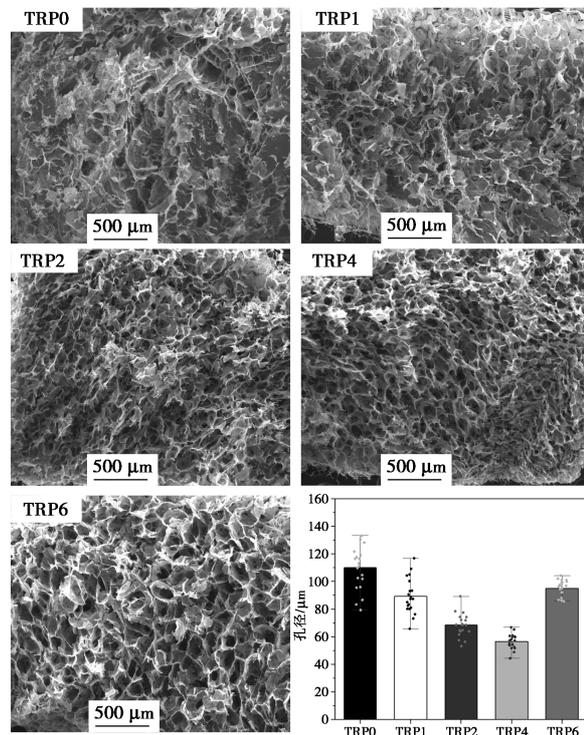


图 3 水凝胶样品扫描电镜图像和孔径图

Fig.3 Scanning electron microscopy images and pore diameter of hydrogel samples

2.3 TRP 水凝胶的抗压缩性能分析

TRP 水凝胶的压缩应力-应变曲线如图 4 所示,随着 TRP 含量的增加,TRP1、TRP2、TRP4 水

凝胶的抗压强度和压缩韧性逐渐增加,TRP4 水凝胶显示出最大的抗压强度(13.79 kPa)、应变(74.04%)、模量(16.19 kPa)和压缩韧性(3.34 kJ/m³)。这可能是由于 TRP 含有大量—OH,通过氢键增强了聚合物链之间的缠结,使水凝胶结构更致密,提高了其抗压强度。而过量的 TRP 则会导致水凝胶结构变得疏松,TRP6 水凝胶的抗压强度降低。这与上述 SEM 分析结果是一致的。

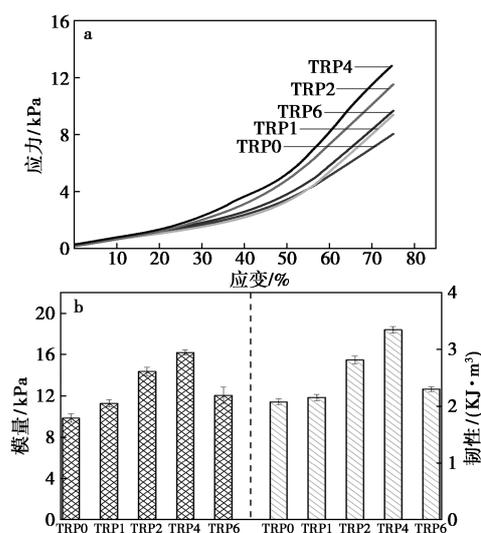
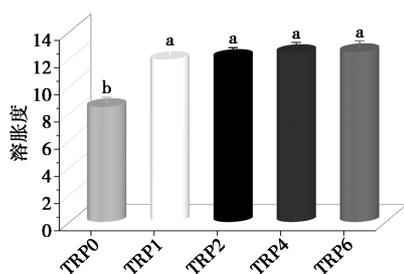


图 4 TRP 水凝胶的应力应变曲线(a)、模量和压缩韧性(b)

Fig.4 Compressive stress-strain curves (a), modulus and toughness (b) of TRP hydrogel

2.4 TRP 水凝胶的溶胀行为分析

研究水凝胶在 PBS 中的溶胀行为,可用来评估将水凝胶应用于伤口敷料时其吸收伤口渗出液的能力。TRP 水凝胶的溶胀度如图 5 所示。TRP0、TRP1、TRP2、TRP4、TRP6 水凝胶的溶胀度分别为 8.52、11.95、12.05、12.35 和 12.41。TRP 水凝胶的溶胀度比空白水凝胶有明显提高,这可能是因为 TRP 水凝胶中含有更多的—OH,赋予



不同字母代表有显著性差异($n=8, p<0.05$)

图 5 TRP 水凝胶溶胀度

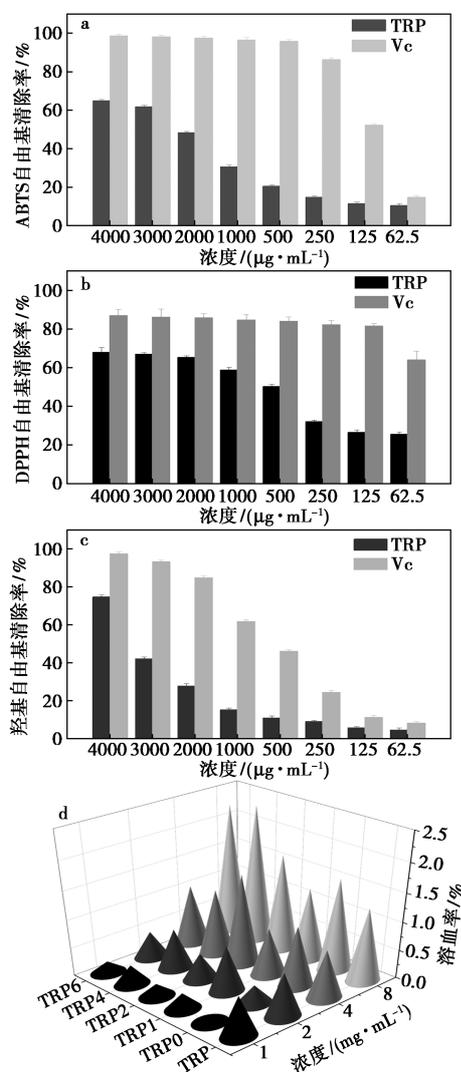
Fig.5 Swelling behavior of TRP hydrogel

了 TRP 水凝胶更强的水合能力。这提示 TRP 水凝胶作为伤口敷料时,具有在保持伤口湿润的同时可吸收伤口渗出液的潜力。

2.5 TRP 水凝胶体外活性研究

过量的自由基会破坏蛋白质、核酸和细胞膜,损伤正常细胞或组织^[19]。通过对多种自由基清除能力的测定,可判断 TRP 抗氧化能力的强弱。由图 6a~6c 可知,当 TRP 的浓度为 4 mg/mL 时,TRP 对 ABTS 自由基、DPPH 自由基、羟基自由基的清除率分别为 64.79%、67.82% 和 74.60%。并且,TRP 对多种自由基的清除能力与其浓度成正比。

当外源物质与血液直接接触时可能会产生溶



a. TRP 对 ABTS 自由基清除率; b. TRP 对 DPPH 自由基清除率; c. TRP 对羟基自由基清除率; d. TRP 和水凝胶的溶血率

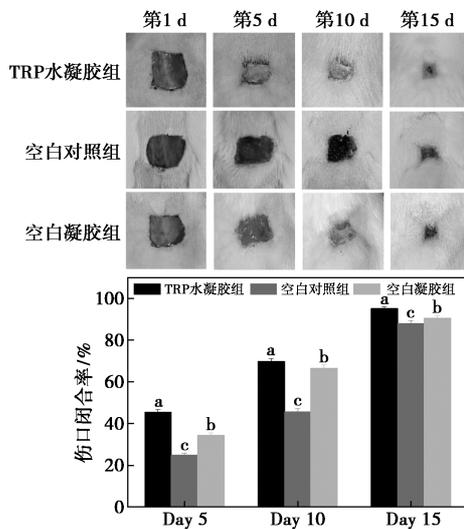
图 6 TRP 水凝胶清除自由基能力和溶血率

Fig.6 Radicals clearance capacity and hemolysis rate of TRP hydrogel

血,溶血程度可用溶血率来表示;一般情况下,伤口敷料的溶血率应小于 5%^[20]。如图 6d 所示,TRP 以及 TRP 水凝胶的溶血率均小于 5%。当 TRP 或 TRP 水凝胶的浓度高达 8 mg/mL 时,TRP 的溶血率仅为 1.29%,而 TRP6 水凝胶的溶血率为 2.36%。这说明,不论是 TRP 或 TRP 水凝胶都具有良好的血液相容性。

2.6 TRP 水凝胶应用于伤口敷料对促进体内伤口愈合作用研究

溶胀行为分析和体外活性研究结果表明,TRP 水凝胶具有应用于伤口敷料的良好潜能。本研究选取 TRP4 水凝胶作为小鼠全皮层损伤修复实验的伤口敷料。小鼠全皮层损伤创面愈合情况见图 7。结果表明,TRP 水凝胶组小鼠的伤口在 15 d 的恢复期间内收缩最快,且全程无任何发炎红肿或化脓现象。空白对照组愈合速度最慢,且恢复期间伴有红肿化脓现象。空白凝胶组介于其中,恢复速度较慢但恢复期间未曾发炎红肿。结果表明 TRP 水凝胶表现出较好的促进创面愈合的能力。



不同字母代表有显著性差异 ($n=8, p<0.05$)

图 7 小鼠伤口愈合图 (a) 和闭合率 (b)

Fig.7 Graph of wound healing process (a) and wound closure rate (b) in mice

术后第 15 d 小鼠伤口处皮肤组织 H&E 染色结果如图 8 所示。与正常小鼠皮肤切片染色结果图 8d 对比,TRP 水凝胶组小鼠伤口恢复处表皮结构完整、厚度与正常小鼠组相近,真皮内可见腺体分布均匀,创面恢复效果最好;空白水凝胶组小鼠伤口恢复处表皮较完整,未见增生,真皮层内出现少量毛囊,创面恢复效果次之;空白对照组小鼠

伤口恢复处表皮颗粒层及棘层增厚,未见皮肤附属器官,无毛囊组织,创面恢复的效果最差。以上表明 TRP 水凝胶能够促进伤口处毛囊再生、皮肤组织重建。

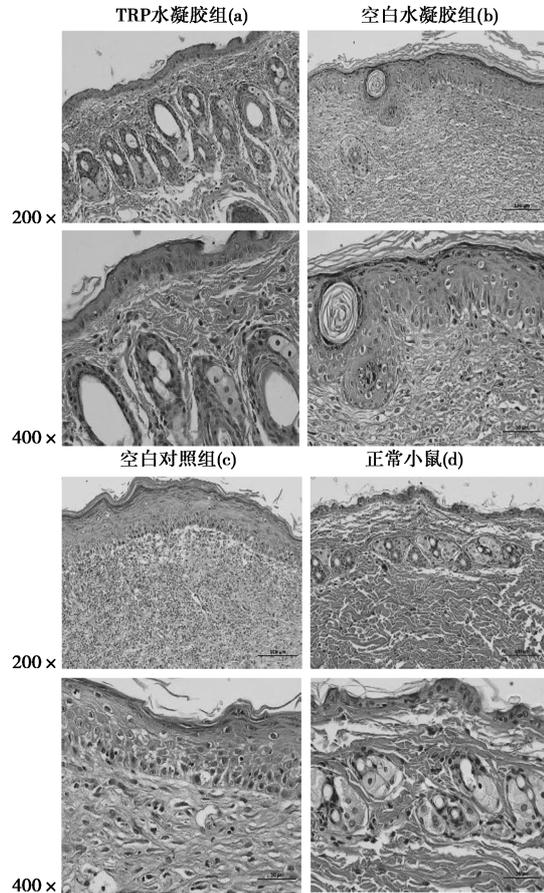


图 8 小鼠皮肤组织 H&E 染色图像

Fig.8 Hematoxylin and eosin-stained sections of mouse wound tissues

已有多项研究表明植物多糖能够促进创面恢复,Wang 等^[21]研究发现党参多糖能抑制受损皮肤促炎因子的高表达,显著增加胶原纤维的含量并促进小鼠创面愈合。Luo 等^[22]在小鼠全皮层损伤模型中发现白芨多糖能减轻炎症细胞浸润、降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平、促进表皮生长因子分泌,加速小鼠伤口闭合。本研究也取得了类似实验结果,TRP 具有的抗氧化、抗炎和增强免疫等生物活性,使得 TRP 水凝胶组小鼠在全皮层损伤恢复期间未见明显的炎症反应,伤口愈合速度快、组织恢复完整。

3 结论

本文采用冻融法制备了一系列 TRP 水凝胶。形貌、机械性能、溶胀行为研究表明,该水凝胶孔

洞结构致密、均一,具有良好的抗压强度和溶胀度。体外活性研究发现 TRP 能够有效清除多种自由基,TRP 水凝胶具有良好的血液相容性。此外,在小鼠全皮层损伤修复实验中,TRP 水凝胶表现出良好的促进伤口愈合的能力;H&E 染色结果显示,TRP 水凝胶能够减轻皮肤伤口处炎症反应,促进毛囊恢复和皮肤组织再生。综上,TRP 水凝胶在伤口敷料方面具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] KAMOUN E A, KENAWY E R S, CHEN X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings [J]. *J. Adv. Res.*, 2017, **8**(3): 217-233.
- [2] SIBUSISO A, ATIM B A. Chitosan and cellulose-based hydrogels for wound management [J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, **21**(24): 9 656.
- [3] 张浩然, 王士凡, 朱文友, 等. 抗菌水凝胶在生物医学领域的研究进展 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(5): 622-631.
- [4] SEKAR A N, SARAVAN A N, SELVAR A J, et al. A review on injectable chitosan/beta glycerophosphate hydrogels for bone tissue regeneration [J]. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, **121**: 38-54.
- [5] KALANTARI K, MOSTAFAVI E, SALEH B, et al. Chitosan/PVA hydrogels incorporated with green synthesized cerium oxide nanoparticles for wound healing applications [J]. *Eur. Polym. J.*, 2020, (**134**): 134.
- [6] 何贵东, 李政, 华嘉川, 等. 水凝胶在医学领域应用研究进展 [J]. *化工新型材料*, 2017, **45**(5): 223-225.
- [7] ABDEL-SALAM O M E, YOUNESS E R, MOHAMMED N A, et al. Novel neuroprotective and hepatoprotective effects of citric acid in acute malathion intoxication [J]. *Asian. Pac. J. Trop. Med.*, 2016, **9**(12): 1 157-1 169.
- [8] 国家药典委员会. 中国药典 [M]. 2020 版, 北京: 中国医药科技出版社.
- [9] 李振红, 陆阳, 刘晶星. 天花粉化学成分与药理活性 [J]. *国外医药 (植物药分册)*, 2003, **18**(1): 1-4.
- [10] 黄晓兰, 吴惠勤, 王蔚, 等. 天花粉多糖的单糖组成和相对分子质量的测定 [J]. *中草药*, 2008, **39**(12): 1 810-1 812.
- [11] 屠婕红, 黄佳, 傅应华, 等. 天花粉免疫活性多糖 RTPS-I 的分离及性质结构研究 [J]. *中国药师*, 2017, **20**(2): 270-273.
- [12] 刘景田, 党小军, 王慧萍, 等. 中药多糖对红细胞膜相 CD35 免疫活性的调节作用 [J]. *中国现代医学杂志*, 2002, **12**(1): 7-9.
- [13] 赵桂珠, 朱逢佳, 徐水凌, 等. 天花粉多糖促人外周血单个核细胞增殖和对人乳腺癌细胞人子宫颈癌细胞的生长抑制作用 [J]. *时珍国医国药*, 2011, **22**(9): 2 140-2 142.
- [14] 许林琴, 舒梦珂, 屠婕红. HPGPC 法测定天花粉免疫活性多糖的相对分子质量 [J]. *海峡药学*, 2015, **27**(9): 56-58.
- [15] LIU K, WU X P, DAI H L. Citric acid cross-linked chitosan for inhibiting oxidative stress after nerve injury [J]. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, 2022, **110**(10): 2 231-2 240.
- [16] 高秀, 柏旭, 蔡建, 等. 三白草地上部分化学成分及抗氧化活性研究 [J]. *中草药*, 2022, **53**(24): 7 672-7 678.
- [17] ZENG B Y, SU M H, CHEN Q X, et al. Antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Anoctchilus roxburghii* [J]. *Carbohydr. Polym.*, 2016, **153**: 391-398.
- [18] ZHENG L W, WANG Q H, ZHANG Y S, et al. A hemostatic sponge derived from skin secretion of *Andrias davidianus* and nanocellulose [J]. *Chem. Eng. J.*, 2021, (**6**): 129 136.
- [19] AHMADIAN E, EFTEKHARI A, KAVETSKYY T, et al. Effects of quercetin loaded nanostructured lipid carriers on the paraquat-induced toxicity in human lymphocytes [J]. *Pestic. Biochem. Phys.*, 2020, **167**: 104 586.
- [20] YANG Z L, WANG J, LUO R F, et al. The covalent immobilization of heparin to pulsed-plasma polymeric allylamine films on 316L stainless steel and the resulting effects on hemocompatibility [J]. *Biomaterials*, 2010, **31**(8): 2 072-2 083.
- [21] WANG C L, ZHANG Y C, XUE H Y, et al. Extraction kinetic model of polysaccharide from *Codonopsis pilosula* and the application of polysaccharide in wound healing [J]. *Biomedical materials (Bristol, England)*, 2022, **17**(2): 25 012.
- [22] LUO Y, DIAO H J, XIA S H, et al. A physiologically active polysaccharide hydrogel promotes wound healing [J]. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2010, **94**(1): 193-204.

功能材料

NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 稀土掺杂上转换纳米材料的制备与条件优化殷慧¹, 孟颖¹, 曲超¹, 罗利霞^{1,2}, 张凌燕^{1,2}, 李淑荣^{*1,2}, 孟佩俊^{*1,2}

(1. 内蒙古科技大学 包头医学院 公共卫生学院, 包头 014040;

2. 内蒙古自治区卫生检测与评价工程技术中心, 包头 014040)

摘要:利用溶剂热法制备油相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺, 经“超声去油”后得到水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺, 并对稀土离子掺杂比例、反应温度、反应时间和油酸体积分数进行条件优化, 通过 X-射线衍射(XRD)、透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)和分子荧光光谱仪(MFS)对其进行表征。结果表明, 当稀土离子掺杂比例为 NaYF₄:25% Yb³⁺, 0.3% Tm³⁺, 反应时间为 60 min, 反应温度为 300 °C, 油酸体积分数为 20.6% 时, 合成的水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 为六方晶型结构, 六边形两平面间的平均粒径大小约为 50 nm, 形貌均匀、尺寸均一、分散性良好, 980 nm 近红外光激发下, 在 452 和 478 nm 处荧光强度最大, 且发出明亮的蓝色荧光。水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的成功制备为其后续在细胞成像、生物传感以及检测方面的应用奠定了基础。

关键词:稀土掺杂上转换纳米材料; 合成; 溶剂热法; 超声去油; 条件优化

中图分类号: O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0033-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0550

Preparation and Optimization of Rare Earth Doped Upconversion Nanoparticles NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ YIN Hui¹, MENG Ying¹, QU Chao¹, LUO Li-xia^{1,2}, ZHANG Ling-yan^{1,2}, LI Shu-rong^{*1,2}, MENG Pei-jun^{*1,2} (1. Public Health School, Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou 014040, China; 2. Engineering Technology Center of Hygienic Inspection and Assessment of Inner Mongolia Autonomous Region, Baotou 014040, China)

Abstract: Oil phase NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ nanoparticles were prepared by solvothermal method, and aqueous phase NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ nanoparticles were obtained after ultrasonic deoiling. The doping ratio of rare earth ions, reaction temperature, reaction time and volume fraction of oleic acid were optimized. The nanoparticle were characterized by X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscope (TEM), scanning electron microscope (SEM) and molecular fluorescence spectrometer (MFS). The results showed that when the doping ratio of rare earth ions was NaYF₄:25% Yb³⁺, 0.3% Tm³⁺, the reaction time was 60 min, the reaction temperature was 300 °C and the volume fraction of oleic acid was 20.6%, the synthesized aqueous phase NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ was hexagonal crystal structure, The average particle size between the two planes of the hexagon was about 50 nm, the morphology was uniform, the size was uniform, and the dispersion was good. Under the excitation of 980 nm near infrared light, the fluorescence intensity was the highest at 452 and 478 nm and emitted bright blue fluorescence. The successful preparation of aqueous phase NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ lays a foundation for subsequent applications in cell imaging, biosensor and detection.

Key words: rare-earth-elements-doped upconversion nanoparticles (REEs-UCNPs); synthesis; solvothermal method; ultrasonic deoiling; condition optimization

稀土掺杂上转换纳米材料 (Rare-earth-elements-doped Upconversion Nanoparticles, REEs-

UCNPs) 是一类新型发光材料, 可以吸收长波长的近红外光, 发射短波长的紫外-可见光^[1,2]。与常

收稿日期: 2023-08-22; 网络首发日期: 2023-10-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960601, 82360656); 内蒙古自治区高等学校青年科技英才支持项目 (NJYT23026); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2023MS08009, 2021MS08055); 内蒙古自治区卫生健康委医疗卫生科技计划项目 (202201383); 包头医学院 2023 年研究生科研创新项目 (bycx2023006)。

作者简介: 殷慧 (1997-), 女, 内蒙古巴彦淖尔人, 硕士生, 主要研究方向为卫生检验学。

通讯作者: 孟佩俊, E-mail: mengpeijun79@163.com; 李淑荣, E-mail: 21399333@qq.com。

引用本文: 殷慧, 孟颖, 曲超, 等. NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 稀土掺杂上转换纳米材料的制备与条件优化 [J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 33-40。

规的下转换荧光材料^[3]相比, REEs-UCNPs 具有许多优点, 如背景荧光干扰小, 在低功率激发下几乎没有光损伤, 发光性质稳定, 发射光谱线窄, 成像灵敏度高, 无光漂白作用等^[4,5]。

稀土掺杂上转换纳米材料的合成方法有共沉淀法^[6,7]、溶胶-凝胶法^[8]、热分解法^[9]、微乳液法^[10]、水热法^[11,12]等。每种合成方法都有其优缺点。本研究利用溶剂热法^[13]合成 REEs-UCNPs, 相较于以上几种制备方法, 溶剂热法操作更加简单, 反应过程更加温和、易控制, 合成的 REEs-UCNPs 纯度更高。通过加入油酸、十八稀制得的油相 REEs-UCNPs 具有疏水性, 与水相合成法相比, 这种非水方法能够产生具有高结晶、强上转换发光和窄粒径分布的胶体纳米晶体。然而, 油相的 REEs-UCNPs 不能直接应用于生物医学领域^[14]。为了解决这一问题, 本研究利用“超声去油”法将制得的稀土掺杂上转换纳米材料 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 从疏水性转化到亲水性, 为其应用奠定基础。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Smartlab 9 型 X-射线多晶衍射仪(日本理学公司); JEM-2100F 型透射电子显微镜(日本电子公司); Zeiss gmini 300 型扫描电子显微镜(德国蔡司公司); F-4600 型日立分子荧光光谱仪(赛恩斯(北京)仪器有限公司); SZCL-2 型数显智能控温磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司); Multifuge X1R 型台式高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技中国有限公司); Christ Alpha 1-2 LDplus 型冷冻干燥机(上海甄明科学仪器有限公司); KQ-500VDE 型三频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Tensor27 型红外光谱仪(德国布鲁克公司)。

氯化镱(Ⅲ)六水合物($\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99.90%)、氯化钇(Ⅲ)六水合物($\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99.99%)、氯化铥(Ⅲ)六水合物($\text{TmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99.50%)、油酸(OA, 99.7%)、1-十八烷稀(ODE, >90.0%)、氟化铵(NH_4F , 98%)、NaOH(97%)、环己烷($\geq 99.0\%$)、甲醇(99.50%)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 无水乙醇(99.7%, 天津市凯通化学试剂有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 稀土氯化物(LnCl_3)水溶液的制备

准确称取一定量的 $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

和 $\text{TmCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 充分溶解在去离子水中, 分别配制成 1 mol/L YCl_3 、0.1 mol/L YbCl_3 、0.03 mol/L TmCl_3 水溶液, 经过超声处理后得到澄清的溶液。

1.2.2 水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 的制备与表征

参考文献[15], 取 1.2.1 中 0.747 mL YCl_3 、0.25 mL YbCl_3 和 0.1 mL TmCl_3 的水溶液移至三颈圆底烧瓶中, 在磁力搅拌器中快速搅拌, 升温至 110 °C, 保持 20 min, 蒸干水分形成白色固体。冷却至室温后向烧瓶中加入 6 mL 油酸和 15 mL 1-十八碳烯, 将混合物加热至 150 °C, 保持 30 min, 形成清澈均匀的溶液。待反应混合物冷却至 60 °C 时, 加入 5 mL 含一定量的 NaOH 和 NH_4F 的甲醇溶液。然后升温至 110 °C, 保持 20 min, 蒸发掉甲醇和残留水分。随后通入高纯氩气保持 2 min, 接通冷凝管, 升温至 280~310 °C, 保持 40~90 min。反应结束后, 将反应物冷却至室温并转移到离心管中, 加入一定量无水乙醇沉淀纳米材料, 离心, 洗涤沉淀 2 次后, 得到油相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$, 将沉淀材料冻干成粉末后储存备用。

参考文献[16,17], 取上述纳米材料粉末均匀分散到环己烷中, 配制成 3 mg/mL 的溶液, 超声 20 min 后离心 5 min, 重复“超声-离心”步骤 3 次后, 弃掉上清, 取沉淀冻干成粉末后储存备用, 此时便得到水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 。

分别对转水相前后的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 进行 X-射线衍射(XRD)、透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)、傅里叶红外光谱仪(FT-IR)和分子荧光光谱仪(MFS)的表征, 探究“超声去油”法对纳米材料形貌、分散性、发光性能的影响。

1.2.3 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 的合成条件优化

分别对稀土离子掺杂比例、反应时间、反应温度、油酸体积分数进行优化设计, 通过 X-射线衍射(XRD)、透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)和分子荧光光谱仪(MFS)对其进行表征, 探究不同反应条件对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 晶型、分散性、发光性能的影响。

2 结果与讨论

2.1 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 的表征

2.1.1 水相和油相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 的 XRD 对比分析

图 1 是“超声去油”前后 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 的 XRD 图。结果显示, “超声去油”前后 $\text{NaYF}_4:$

Yb³⁺, Tm³⁺ 的 X 衍射峰位置与标准卡片 JCPDS 28-1192 基本吻合, 属于六方晶型, 说明“超声去油”法对材料的形貌、结构基本没有影响, 仅仅改变了其在水相中的分散性。

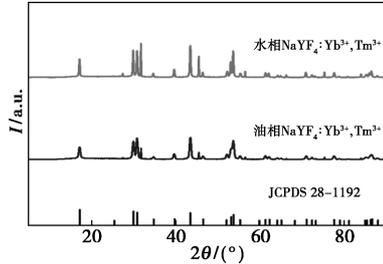
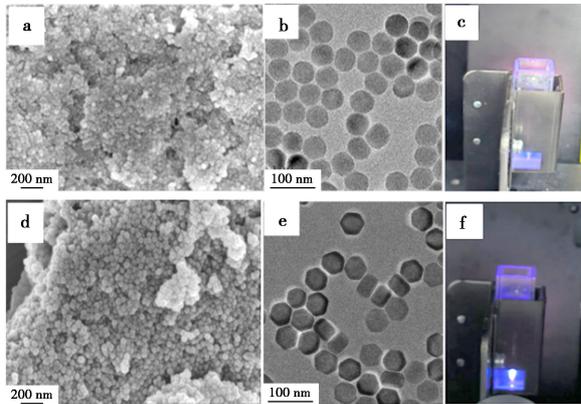


图 1 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 XRD 图

Fig.1 XRD pattern of NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺

2.1.2 水相和油相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的形貌对比分析

图 2a、2d 和 2b、2e 分别是“超声去油”前后 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 SEM、TEM 图, 结果显示, “超声去油”后 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 仍保持均匀的六方晶型结构, 形状规则, 尺寸均一, 且分散性良好, 表明“超声去油”法对纳米材料的形貌结构影响不大。图 2c、2f 分别是“超声去油”前后 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的荧光数码照片, 结果表明“超声去油”后纳米材料的荧光强度明显增强。



a、b、c 为油相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺;
d、e、f 为水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺

图 2 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 SEM、TEM 图及数码照片

Fig.2 TEM、SEM and digital photos of NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺

2.1.3 水相和油相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 FT-IR 对比分析

为了进一步验证纳米材料表面 OA 分子是否被有效去除, 进行了红外吸收光谱测试。图 3 是 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的红外吸收光谱图, 图中显示

纯 OA 分子有两组特征峰, 分别是 2 920、2 853 cm⁻¹ 的—CH 振动峰和 1 565、1 463 cm⁻¹ 的 C=O 振动峰, “超声去油”前的 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 也存在两组特征峰且与纯 OA 分子的特征峰基本吻合, 说明“超声去油”前的 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 表面存在 OA 分子, 经“超声去油”后, 纳米材料表面 OA 分子的特征峰明显下降, 表明 OA 分子大部分被剥离。

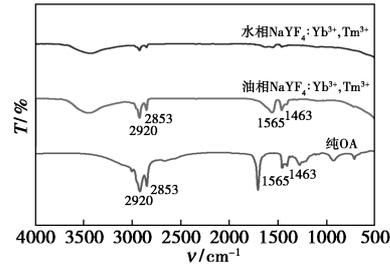
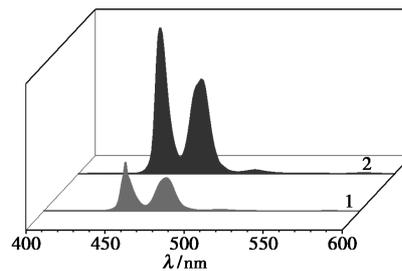


图 3 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 FT-IR 图

Fig.3 FT-IR diagram of NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺

2.1.4 水相和油相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的荧光对比分析

图 4 是“超声去油”前后 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的分子荧光光谱图。结果显示, 980 nm 近红外光激发后, 图 4 的图谱 1、2 均在 452 和 478 nm 处荧光强度最大, 且发出明亮的蓝色荧光, 如图 2c 和 2f。经“超声去油”后, NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的荧光值明显增强, 与图 2 中的荧光数码照片结果一致, 且与文献报道结果相吻合^[16], 由此可推断纳米材料表面的 OA 分子会影响其荧光强度。



1. 油相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺; 2. 水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺

图 4 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 MFS 图

Fig.4 MFS diagram of NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺

2.1.5 Zeta 电位分析

为了考察水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 在水溶液中的稳定性, 将去油后的水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 分别常温放置 0.5、1、5、12、24 h 后测得 Zeta 电位图, 从图可以看出, 随着时间增加, 水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 Zeta 值无明显波动, 且绝对值大于

15 mV,表明本研究转水相后的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 稳定且没有聚沉现象,在水中的分散性良好^[18]。

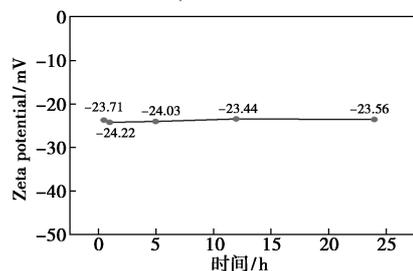


图 5 不同时间下水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 在水中的 Zeta 值

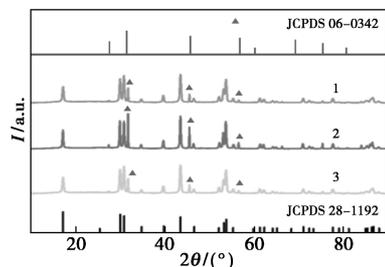
Fig.5 Zeta values of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ in aqueous phase at different time

综上所述,“超声去油”后, $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 粒子的晶型、形貌基本没有变化,而荧光强度明显增强可能与纳米粒子表面 OA 分子大部分被有效剥离有关。因此,本研究通过对油相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的合成条件优化来探讨水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的优化条件是可行的。本研究旨在合成功形貌均匀、尺寸均一、荧光强度高、六方晶型结构的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 。

2.2 不同反应条件下合成 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 纳米材料及表征

2.2.1 稀土离子掺杂比例对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 性能的影响

保持敏化剂 Yb^{3+} 掺杂比浓度不变 (25 mol%),改变激活剂 Tm^{3+} 掺杂比浓度 (0.2、0.3、0.5 mol%) 合成 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$,图 6 是不同稀土离子掺杂比例下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 XRD 图。结果显示,3 种不同 Tm^{3+} 掺杂比浓度下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 X 衍射峰位置与标准卡片 JCPDS 28-1192 中 $\beta\text{-NaYF}_4$ 的匹配度最



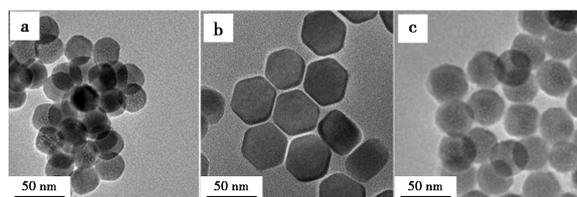
1. $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+} = 74.8\%:25\%:0.2\%$; 2. $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+} = 74.7\%:25\%:0.3\%$; 3. $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+} = 74.5\%:25\%:0.5\%$

图 6 不同稀土离子掺杂比例下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 XRD 图

Fig.6 XRD patterns of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ synthesized under different doping ratios of rare earth ions

高,属于六方晶型,只是在 32.5° 、 44.7° 以及 57.3° 有较弱的杂峰,经过与标准卡片 JCPDS 06-0342 对比确定该杂峰是 $\alpha\text{-NaYF}_4$ 的衍射峰,仅少量存在。随着 Tm^{3+} 掺杂比浓度的增加,XRD 的信号更强,纳米材料的结晶效果更好,随着 Tm^{3+} 掺杂比浓度持续增加,XRD 信号有减弱的趋势,由此可说明激活剂的浓度影响结晶效果。

图 7 是不同稀土离子掺杂比下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 TEM 图。结果显示,稀土离子掺杂比对纳米材料的形貌和分散性均有影响,当 Tm^{3+} 掺杂比浓度为 0.2 mol% 时,纳米材料分布混乱,团聚现象明显。随着 Tm^{3+} 掺杂比浓度逐渐增大至 0.3 mol%,纳米材料呈现均匀的六方晶型结构,形状规则,尺寸均一,且分散性良好。继续增大 Tm^{3+} 掺杂比浓度,纳米材料近似球形结构。

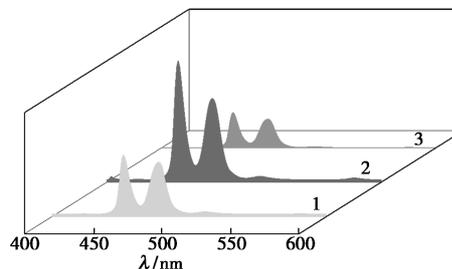


a. $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+} = 74.8\%:25\%:0.2\%$; b. $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+} = 74.7\%:25\%:0.3\%$; c. $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+} = 74.5\%:25\%:0.5\%$

图 7 不同稀土离子掺杂比下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 TEM 图

Fig.7 TEM images of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ synthesized under different doping ratios of rare earth ions

图 8 是不同稀土离子掺杂比下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 MFS 图。结果显示,980 nm 近红外光激发后,3 种 Tm^{3+} 掺杂比浓度下合成的纳米材料均在 452 和 478 nm 处荧光强度最大。当 Tm^{3+} 掺杂比浓度较低,为 0.2 mol% 时,随着



1. $\text{Y}:\text{Yb}:\text{Tm} = 74.8\%:25\%:0.2\%$; 2. $\text{Y}:\text{Yb}:\text{Tm} = 74.7\%:25\%:0.3\%$; 3. $\text{Y}:\text{Yb}:\text{Tm} = 74.5\%:20\%:0.5\%$

图 8 不同稀土离子掺杂比下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 MFS 图

Fig.8 MFS diagram of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ synthesized under different doping ratios of rare earth ions

Tm³⁺ 掺杂比浓度的增加, 纳米材料的荧光强度越高, 当 Tm³⁺ 掺杂比浓度为 0.3 mol% 时, 纳米材料的荧光强度最大。继续增大 Tm³⁺ 掺杂比浓度为 0.5 mol% 时, 纳米材料荧光强度减弱。

由此可进一步证明激活剂浓度对纳米材料的发光性能影响很大, 在本实验研究的稀土离子掺杂比浓度范围内, 当激活剂 Tm³⁺ 掺杂比浓度较低时, 由于敏化剂 Yb³⁺ 和激活剂 Tm³⁺ 之间的距离较远, 降低了 Yb³⁺ → Tm³⁺ 的能量传递效率, 导致纳米材料的荧光强度减弱。随着 Tm³⁺ 掺杂比浓度增加, 敏化剂 Yb³⁺ 和激活剂 Tm³⁺ 之间距离缩短, 使纳米材料的荧光强度逐渐增强。当 Tm³⁺ 掺杂比浓度持续增大时, 由于 Tm³⁺ 的浓度淬灭作用导致纳米材料的荧光强度减弱, 所以 Tm³⁺ 浓度过高反而会降低荧光强度。

综上所述, 对上述不同稀土离子掺杂比例下合成的 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 进行 XRD、TEM、MFS 表征可得, 当稀土离子掺杂比为 NaYF₄:25% Yb³⁺, 0.3% Tm³⁺, 其他反应条件保持一致时, 合成的纳米材料呈六方晶型, 形貌较好, 尺寸均一, 且发光强度最高。

2.2.2 反应时间对 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 性能的影响

图 9 分别是反应时间为 40、60、90 min 下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 XRD 图。结果显示, 延长反应时间, NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 X 衍射峰位置与标准卡片 JCPDS 28-1192 中 β-NaYF₄ 的匹配度最高。纳米材料的晶型结构基本保持不变, 属于六方晶型结构。说明本实验研究的反应时间范围基本不影响材料的结构和形貌。

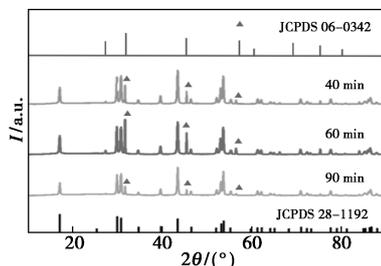


图 9 不同反应时间下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 XRD 图

Fig.9 XRD patterns of aqueous NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ synthesized at different reaction time

图 10 分别是反应时间为 40、60、90 min 下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 TEM 图。结果显示, 当反应时间为 40 min 时, 合成的纳米材料部分呈

现六方晶型结构, 但形状不均一, 可能是由于反应不完全, 导致结晶效果不好。当反应时间延长至 60 min 时, 六方晶型结构逐渐清晰, 形状规则, 尺寸均一, 且分散性良好。当反应时间延长至 90 min 时, 纳米材料的晶型随着反应时间的延长有变差的趋势, 形貌近似球形, 粒径稍有变大, 且出现明显的团聚现象。

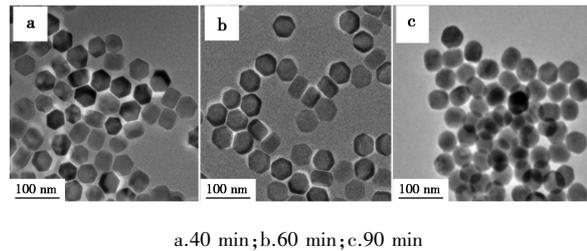


图 10 不同反应时间下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 TEM 图

Fig.10 TEM images of aqueous NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ synthesized at different reaction time

图 11 分别是反应时间为 40、60、90 min 下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 MFS 图。结果显示, 980 nm 近红外光激发后, 不同反应时间下合成 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 在 452 和 478 nm 处荧光强度最大, 且发出明亮的蓝色荧光。当反应时间为 60 min 时, 纳米材料的荧光强度最大。

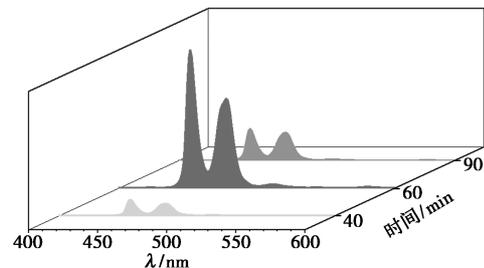


图 11 不同反应时间下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 MFS 图

Fig.11 MFS diagram of aqueous NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ synthesized at different reaction time

反应时间是影响上转换纳米材料形貌、结构以及荧光性能的一个重要参数。TEM 和 MFS 结果发现, 在本实验研究的时间范围内, 反应时间过短可能会导致反应不充分, 使纳米晶体表面吸附的物质较多, 影响结晶效果并降低荧光性能。反应时间过长会增大纳米材料的粒径尺寸, 从而降低其荧光性能。

综上所述, 对上述不同反应时间下合成的 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 进行 XRD、TEM、MFS 表征可

得,当反应时间为 60 min,其他反应条件保持一致时,合成的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 呈六方晶型,形貌规则,尺寸均一,有最高的荧光强度。

2.2.3 反应温度对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 性能的影响

图 12 分别是反应温度为 280、300、310 °C 下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 XRD 图。结果显示,反应温度分别为 300 和 310 °C 时,合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 X 衍射峰位置与标准卡片 JCPDS 28-1192 中 $\beta\text{-NaYF}_4$ 的匹配度最高,属于六方晶型。而当反应温度为 280 °C 时,其衍射峰位置与标准卡 JCPDS 28-1192 不匹配。表明温度过低可能会使前驱体反应不充分,导致无法形成六方晶型结构。

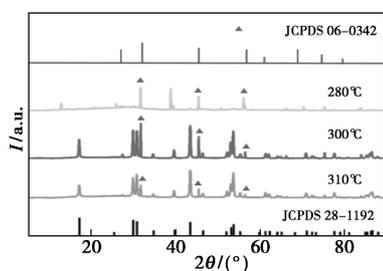
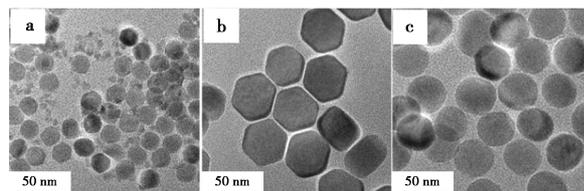


图 12 不同反应温度下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 XRD 图

Fig.12 XRD patterns of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ synthesized at different reaction temperatures

图 13 分别是反应温度为 280、300、310 °C 下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 TEM 图。结果显示,当反应温度 280 °C 时,六方晶型的纳米材料开始生成,但大部分近似球形,粒径大小约为 25 nm,均一性差,分布散乱且存在团聚粘连现象。当反应温度逐渐升高至 300 °C 时,六方晶型的纳米材料稳定存在,六边形两平面间的平均粒径大小约为 50 nm,且整体形貌规则、分散性良好,尺寸均一。当反应温度继续升高至 310 °C 时,



a.280 °C;b.300 °C;c.310 °C

图 13 不同反应温度下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 TEM 图

Fig.13 TEM images of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ nanoparticles synthesized at different reaction temperatures

纳米材料边缘模糊,形貌大部分呈球型,且出现一定程度的团聚现象。表明在以上研究的温度范围内,反应温度对纳米材料的分散性、形貌、尺寸影响显著,温度过低会减小纳米材料的粒径尺寸,温度过高则会影响纳米材料形貌。

图 14 分别是反应温度为 280、300、310 °C 下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 MFS 图。结果显示,980 nm 近红外光激发后,不同反应温度下合成的纳米材料均在波长为 452 和 478 nm 处产生最大荧光强度。在以上研究的温度范围内,随着温度逐渐升高,纳米材料的荧光强度持续增大,当反应温度增大至 310 °C 时,纳米材料的荧光强度最高。

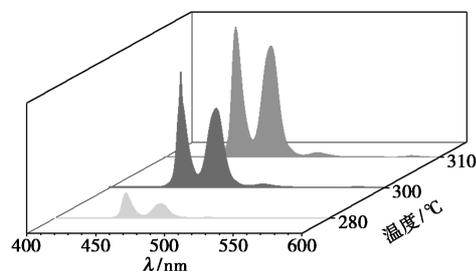


图 14 不同反应温度下合成水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的 MFS 图

Fig.14 MFS diagram of aqueous $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ nanoparticles synthesized at different reaction temperatures

由 TEM 图片和 XRD 数据可发现,升高温度有利于形成六方晶型结构,并且会增大纳米材料的粒径尺寸。通常情况下,纳米材料的荧光强度随着温度的升高而衰减^[19],但从 MFS 图可发现,随着反应温度的升高,纳米材料的荧光强度反而逐渐增大。可能是由于温度不断升高,纳米材料表面的水分子脱离纳米材料表面,使得 Yb^{3+} 无辐射跃迁能力下降,导致纳米材料的荧光强度增大^[20],也可能是温度越高,结晶度好,表面缺陷少,使荧光效率增强^[21]。

综上所述,对上述不同反应温度下合成的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 进行 XRD、TEM、MFS 表征可得,当反应温度为 310 °C 时,纳米材料的荧光强度最大,但分散性和晶型较差。因此,最终确定反应温度为 300 °C,其他反应条件保持一致时,合成的 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 呈六方晶型,形貌规则,尺寸均一,且有较高的荧光强度。

2.2.4 油酸体积分数对 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 性能的影响

图 15 是油酸体积分数为 14.8%、20.6%、

25.7% 下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 XRD 图。结果显示, 不同油酸体积分数合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 X 衍射峰位置与标准卡片 JCPDS 28-1192 中 β-NaYF₄ 的匹配度最高, 属于六方晶型, 说明在以上研究的油酸体积范围内, 其对纳米材料的形貌结构影响不大。

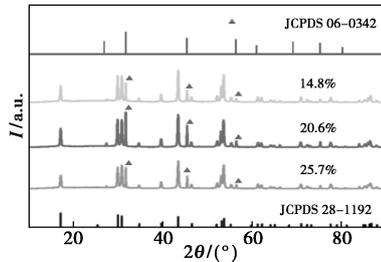
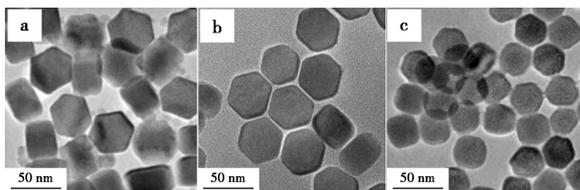


图 15 不同油酸体积分数下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 XRD 图

Fig.15 XRD patterns of aqueous NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ synthesized at different oleic acid volume fractions

图 16 分别是油酸体积分数为 14.8%、20.6%、25.7% 下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 TEM 图。结果显示, 当油酸体积分数缩小至 14.8% 时, 纳米材料边界模糊, 形貌不规则, 可能是由于油酸过少导致油酸分子表面没有足够多的配体与纳米材料表面的金属离子螯合, 使整个反应不充分。随着油酸体积分数的增大, 纳米材料的分散性逐渐趋于好转, 当油酸体积分数达到 20.6% 时, 纳米材料呈规则的六方晶型, 大小均匀, 且分散性良好。当油酸体积分数继续增大至 25.7% 时, 纳米材料呈现球形和六方晶型混合状态, 且出现明显的团聚现象, 可能是由于油酸含量过多导致油酸分子上的配体没有完全与纳米材料表面的金属离子螯合, 使过多的油酸包裹在纳米材料表面。



a. 14.8%; b. 20.6%; c. 25.7%

图 16 不同油酸体积分数下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 TEM 图

Fig.16 TEM images of aqueous NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ synthesized in different oleic acid volume fractions

图 17 分别是油酸体积分数为 14.8%、

20.6%、25.7% 下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 MFS 图。结果显示, 不同油酸体积分数下合成的纳米材料均在 452 和 478 nm 处产生最大荧光强度。随着油酸体积分数逐渐增加, 纳米材料的荧光强度逐渐增强。当油酸体积分数增加至 20.6% 时, 纳米材料的荧光强度最大, 继续增加至 25.7% 时, 荧光强度稍有减弱。

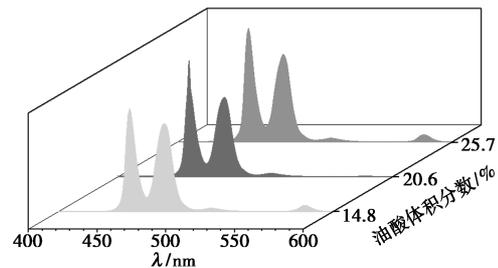


图 17 不同油酸体积分数下合成水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 的 MFS 图

Fig.17 MFS diagram of aqueous NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ nanoparticles synthesized with different oleic acid volume fractions

油酸作为一种螯合物, 其表面含有的单齿配体和双齿配体能与纳米材料上的金属离子发生螯合反应。TEM 和 MFS 结果发现, 本实验研究的油酸体积分数范围内, 油酸体积分数过低, 纳米材料形貌不规则, 边缘模糊且荧光强度较低, 可能是由于油酸过少导致油酸分子表面没有足够多的配体与纳米材料表面的金属离子螯合, 使整个反应不充分。增大油酸体积分数后, 油酸分子上的配体完全与纳米材料表面的金属离子发生螯合反应, 纳米材料的形貌逐渐呈现规则的六方晶型结构且荧光强度增大。继续增大油酸体积分数后, 纳米材料出现团聚现象, 可能是由于油酸含量过多导致油酸分子上的配体没有完全与纳米材料表面的金属离子螯合, 使过多的油酸包裹在纳米材料表面。

综上所述, 对本实验研究的油酸体积分数范围内合成的水相 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 进行 XRD、TEM、MFS 表征可得, 当油酸体积分数为 20.6%, 其他反应条件保持一致时, 合成的 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 呈六方晶型, 形貌规则, 尺寸均一, 且发光强度最高。

3 结论

通过对“超声去油”前后 NaYF₄:Yb³⁺, Tm³⁺ 进行 XRD、SEM、TEM、FT-IR、MFS 表征可得, “超声

去油”后,纳米材料的形貌和分散性与超声前基本一致。超声后得到的水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 呈规则的六方晶型结构,尺寸均一,在水中分散性好且荧光强度明显增强。表明通过“超声去油”法制备水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 的有效性和可行性。

实验条件优化结果表明,最佳稀土元素掺杂比例为 $\text{Y}^{3+}:\text{Yb}^{3+}:\text{Tm}^{3+}=74.7:25:0.3$,反应时间为 60 min,反应温度为 300 °C,油酸体积分数为 20.6%。在最佳条件下,合成的水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$ 为尺寸均一、分散性良好的六方晶型结构,六边形两平面间的平均粒径大小约为 50 nm。980 nm 近红外光激发下,在 452 和 478 nm 处荧光强度最大,且发出明亮的蓝色荧光。本研究利用溶剂热法结合“超声去油”法制备出小尺寸、强上转换发光的水相 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+},\text{Tm}^{3+}$,为其后续在细胞成像、生物传感以及检测方面的应用奠定了坚实基础。

参考文献:

- [1] GUO Q Y, WU J H, YANG Y Q, et al. High performance perovskite solar cells based on $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}/\text{Sc}^{3+}@\text{NaYF}_4$ core-shell upconversion nanoparticles [J]. *J. Power Sources*, 2019, **426**(426): 178-187.
- [2] 殷慧, 孟颖, 彭微, 等. 稀土掺杂上转换纳米材料在农药残留检测中的应用 [J]. *化学试剂*, 2023, **45**(3): 22-28.
- [3] LI Y, LIN H C, ZENG J, et al. Enhance short-wavelength response of CIGS solar cell by CdSe quantum disks as luminescent down-shifting material [J]. *Sol. Energy*, 2019, **193**(C): 303-308.
- [4] 张敬迎. 稀土掺杂 NaYF_4 上转换纳米材料的合成及表征 [D]. 海口: 海南大学, 2013.
- [5] KUMAR D, SHARMA K, VERMA S, et al. A short review on rare earth doped NaYF_4 upconverted nanomaterials for solar cell applications [J]. *Mater. Today: Proc.*, 2020, **21**(4): 1 868-1 874.
- [6] XIE X Y, WANG W, CHEN H R, et al. CaGdF_5 based heterogeneous core@shell upconversion nanoparticles for sensitive temperature measurement [J]. *RSC Adv.*, 2023, **13**(13): 8 535-8 539.
- [7] 周钰, 唐喆, 琦琦. 反相微乳法制备 DMCC 用于催化二氧化碳与环氧丙烷共聚 [J]. *化学试剂*, 2017, **39**(11): 1 159-1 164.
- [8] HEEYEON P, GANG Y Y, MIN S K, et al. Thin film fabrication of upconversion lanthanide-doped NaYF_4 by a sol-gel method and soft lithographical nanopatterning [J]. *J. Alloys Compd.*, 2017, **728**: 927-935.
- [9] 陈小勇, 朱玉莲, 郭小美, 等. 基于能量转移的稀土上转换发光复合体系检测过氧亚硝酸根 [J]. *分析试验室*, 2022, **41**(10): 1 127-1 134.
- [10] DEEPAK K, SHEFALI V, VISHAL S, et al. Synthesis, characterization and upconversion luminescence of core-shell nanocomposites $\text{NaYF}_4:\text{Er}/\text{Yb}@\text{SiO}_2@\text{Ag}/\text{Au}$ [J]. *Vacuum*, 2018, **157**: 492-496.
- [11] TOMASZ G, SANGEETHA B, DOMINIKA P, et al. Up-conversion luminescence in $\text{BaYF}_5, \text{BaGdF}_5$ and BaLuF_5 nanocrystals doped with $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}, \text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ or $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ ions [J]. *J. Alloys Compd.*, 2015, **649**: 606-616.
- [12] WU Q X, ZHAO S L, XU Z, et al. Synthesis and upconversion mechanism of $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ nanocrystal doped with different concentration of sensitizer [J]. *Spectrosc. Spect. Anal.*, 2018, **39**(5): 1 406-1 411.
- [13] IVANA Z D, MARIA E R, KAZUHIRO Y, et al. PEG and PVP assisted solvothermal synthesis of $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ up-conversion nanoparticles [J]. *Adv. Powder Technol.*, 2016, **27**(3): 845-853.
- [14] DING Z, HE Y, RAO H T, et al. Novel fluorescent probe based on rare-earth doped upconversion nanomaterials and its applications in early cancer detection [J]. *Nanomaterials*, 2022, **12**(11): 1 787-1 803.
- [15] GNANASAMMANDHAN M K, IDRIS N M, BANSAL A, et al. Near-IR photoactivation using mesoporous silica-coated $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}/\text{Tm}$ upconversion nanoparticles [J]. *Nat. Protoc.*, 2016, **11**(4): 688-713.
- [16] 李英. 水溶性上转换纳米荧光体 $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ 的制备与表征 [D]. 济南: 山东师范大学, 2014.
- [17] ZHANG Y, MEHEDI H M, RONG Y, et al. An upconversion nanosensor for rapid and sensitive detection of tetracycline in food based on magnetic-field-assisted separation [J]. *Food Chem.*, 2022, **373**(30): 131 497-131 503.
- [18] 曹雪琴, 钱国坻, 娄颖. Zeta 电位与分散染料的分散稳定性 [J]. *印染助剂*, 1998, (6): 10-14.
- [19] WANG X, LI X, SHEN R, et al. Concentration effect on up-conversion luminescence and excitation path-dependent luminescence temperature quenching in $\text{YNbO}_4:\text{Ho}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ phosphors [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2019, **217**: 107-112.
- [20] PEDRONI M, PICCINELLI F, POLIZZI S, et al. Upconverting Ho-Yb doped titanate nanotubes [J]. *Mater. Lett.*, 2012, **80**(2 012): 81-83.
- [21] 王雅静, 张征, 肖林久, 等. Dy^{3+} 掺杂 NaYF_4 纳米粒子的制备及其上转换发光性质 [J]. *发光学报*, 2012, **33**(3): 258-262.

蒽修饰的四苯乙烯衍生物的合成及发光特性研究

蒋梦忆, 李星, 李艾强, 韩懿*
(武汉科技大学 化工学院, 湖北 武汉 430000)

摘要:四苯乙烯衍生物独特的发光性质使其在成像、传感等众多领域受到了广泛的关注。通过将四苯乙烯与荧光基团蒽相连构筑了化合物 4,4'-二(9-蒽甲基氨基甲基)四苯基乙烯(TPE-AN),研究表明在四氢呋喃和水的混合体系中随着化合物的聚集,其表现出蒽的单体发射、蒽的激基缔合物发射和四苯乙烯的聚集诱导发光特性。除此之外,TPE-AN 表现出可逆的机械变色性能,研磨可导致其发射波长的红移,并伴随着荧光量子产率的下降和荧光寿命的增加,溶剂熏蒸又能使其恢复至初始状态。进一步的研究表明 TPE-AN 的机械变色特性是由四苯乙烯和蒽单元共同决定的。

关键词:四苯乙烯;蒽;聚集诱导发光(AIE);机械变色;荧光

中图分类号:O62 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)12-0041-07

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0469

Synthesis and Emission Property of Anthracene-Dressing Tetraphenylethene JIANG Meng-yi, LI Xing, LI Ai-qiang, HAN Xie* (School of Chemical Engineering and Technology, Wu Han University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

Abstract: The tetraphenylethene (TPE) derivatives have received wide attention in many fields, such as imaging and sensing, for their unique luminescent properties. In this work, 4,4'-Bis(9-anthracenylaminomethyl) tetraphenylethylene (TPE-AN) was synthesized by connecting TPE with anthracene fluorophore. The results indicated that TPE-AN could exhibit the fluorescence character of anthracene monomer, anthracene excimer and AIE emission of TPE in the mixture of tetrahydrofuran and water with the aggregation of TPE-AN. In addition, TPE-AN showed reversible mechanochromic luminescence property. The red shift of emission wavelength was observed under mechanical force stimulation, accompanied with the decrease of fluorescence quantum yield and the increase of fluorescence lifetime, while its initial state could be restored by solvent fuming. Further studies indicate that TPE and anthracene units were responsible for the mechanochromic luminescence behavior of TPE-AN.

Key words: tetraphenylethene; anthracene; aggregation induced emission (AIE); mechanochromic luminescence; fluorescence

有机发光材料因其在发光二极管、荧光传感器、显示器件和生物化学探针等领域具有重要用途而受到了广泛关注^[1-4]。然而大多数传统的发光材料往往在聚集态下表现出荧光淬灭的现象,即聚集诱导发光淬灭(ACQ),因而极大的限制该类材料的实际应用。2001年,Luo等^[5]发现了一类在分散态下不发光而在聚集态下发出较强荧光的硅杂环戊二烯衍生物,并将这种发光现象定义为聚集诱导发光(AIE)。至此,具有AIE特性的发光分子被广泛研究和应用^[6-9]。

四苯乙烯作为AIE家族中的明星分子,在生物成像、化学传感等领域中受到了极大关注^[10-12]。在分散态下,由于四苯乙烯分子内的苯环可自由旋转,因此激发态的能量会以非辐射跃迁的方式被耗散,从而导致其不发光。而在聚集态下,分子内苯环的旋转可被有效抑制,继而激发态的能量可以以光子形式被释放,能够表现出较好的发光特性。鉴于这种独特的发光特性,早期四苯乙烯被广泛应用于ACQ分子的发光性能改

善中,例如,Zhao等^[13]通过碳-碳单键分别将四苯乙烯单元与ACQ发光单元萘、蒽、芘、菲连接,所得产物均表现出聚集诱导发光特性。除此之外,四苯乙烯与荧光单元的连接可赋予分子有趣的发光特性,例如将四苯乙烯与萘酰亚胺共价连接,所得化合物在四氢呋喃中发出黄色荧光,随着水的加入,荧光颜色变为橙红色并伴随着发射强度的显著降低。当水的含量继续增加至一定程度后,溶液颜色变为黄绿色并且其发光强度显著增加。

收稿日期:2023-07-12;网络首发日期:2023-10-11

基金项目:武汉科技大学大学生创新创业训练计划项目(S202110488033);国家自然科学基金资助项目(21901194)。

作者简介:蒋梦忆(2004-),女,贵州贵阳人,本科生,主要研究方向为有机光电材料。

通讯作者:韩懿,E-mail:hanxie@west.edu.cn。

引用本文:蒋梦忆,李星,李艾强,等.蒽修饰的四苯乙烯衍生物的合成及发光特性研究[J].化学试剂,2023,45(12):41-47。

这种有趣的发光现象是由分子内的电荷转移效应和聚集诱导发光效应共同决定的^[14]。另一方面,荧光分子与四苯乙烯单元间的连接方式也会极大地影响分子的发光性能。Hu 等^[15]发现将四苯乙烯与荧光染料 BODIPY 的苯环通过乙烯基连接时,所得化合物的发光性能由扭曲分子内电荷转移效应和 AIE 效应共同决定。而将连接基团更换为乙炔基后,分子的发光性能由局域发光态和 AIE 效应决定。同时,采用乙烯基团将四苯乙烯与 BODIPY 的吡咯环相连时,所得化合物却表现出 ACQ 特性^[16]。因此,采用特定方式将四苯乙烯单元与荧光染料分子连接,可能会赋予化合物独特的发光机制和有趣的发光特性。

另一方面,由于四苯乙烯衍生物具有优良的固态发光特性,其在机械变色材料的构筑中也得到了广泛的运用^[17-19]。机械变色材料在外界机械力刺激下,分子的发光性能会发生明显的变化,表现为发射波长或发光强度的改变,通常这种改变可通过溶剂熏蒸或加热、退火而得以恢复。因而该类材料在防伪、传感领域中具有较好的应用前景。目前基于四苯乙烯的机械变色材料的构筑大多通过两种设计策略:(1)增加分子的共轭体系^[20];(2)基于四苯乙烯单元构筑 D-A 型分子体系^[21]。而通过非共轭体系对四苯乙烯单元进行修饰来构建机械变色化合物依然面临着一定挑战^[22]。化合物固态下松散有序的堆积模式对于机械变色化合物的构建极为重要。荧光基团具有刚性平面的结构特点,在聚集态的时候,能够有序的堆叠在一起。另一方面,分子间的氢键作用也有利于化合物固态下的有序堆积。因此,本文将基于四苯乙烯分子骨架,通过含有氨基单元的非共轭链,将平面型分子葱与四苯乙烯单元连接在一起,并探究所得四苯乙烯衍生物的光物理特性。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

ZF-7 型手提式紫外灯(上海光豪分析仪器有限公司);UV-3600 型紫外分光光度计(日本岛津公司);PerkinElmer LS-55 型荧光分光光度计(美国铂金埃尔默股份有限公司);Agilent 型核磁共振仪(美国安捷伦科技公司);FS5 型稳态瞬态荧光光谱仪(英国爱丁堡公司);Nicomp 380 Z3000 型动态光散射仪(美国 PSS 粒度仪公司)。

9-蒽甲醛(98%)、4-甲基二苯甲酮(98%)、锌粉(99%)、N-溴代丁二酰亚胺(99%)(天津希恩思生化科技有限公司);四氯化钛(99%,上海麦克林生化科技股份有限公司);偶氮二异丁腈(99%,北京百灵威科技有限公司);叠氮化钠、氯化铝锂(97%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);硼氢化钠、无水硫酸钠、无水硫酸镁、无水四氢呋喃、乙醇、甲醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

化合物 5 参考文献[23]合成。

1.2 试验方法

1.2.1 化合物的合成

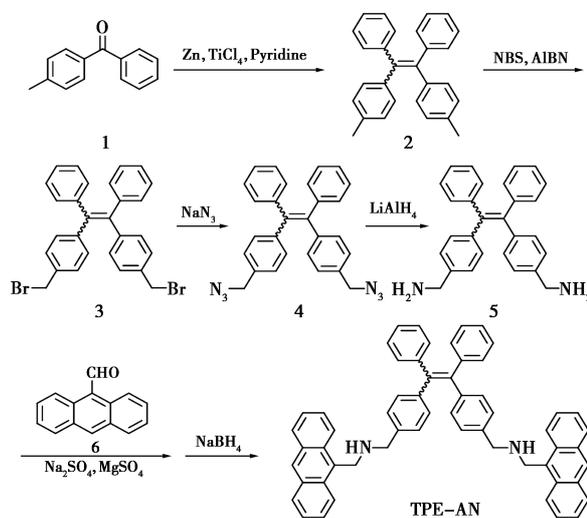


图 1 TPE-AN 的合成路线

Fig.1 Synthetic route of TPE-AN

4-4'-二甲基四苯基乙烯(2)的合成:氮气保护下,将 5 g 锌粉投入到三口烧瓶中,向体系中加入 150 mL 四氢呋喃,冰浴降温至 0 °C。依次加入 5.5 mL 四氯化钛和 0.25 mL 吡啶,随后将体系转入油浴锅内,在 85 °C 下反应 2 h 后,将体系的温度降至 0 °C,用恒压滴液漏斗滴加含 2.5 g 4-甲基二苯甲酮(1)的四氢呋喃溶液,在冰浴条件下搅拌 5 min 后,将体系升温至 85 °C,回流过夜。反应结束后,用 200 mL 40%的碳酸钾溶液淬灭反应体系,搅拌,抽滤,滤液用二氯甲烷萃取 3 次,合并有机相并用饱和食盐水洗涤。有机相经无水硫酸钠干燥后浓缩,经柱层析分离得 2.888 6 g 化合物 2,产率 67.4%。

4-4'-二溴甲基四苯基乙烯(3)的合成:氮气保护下,向 50 mL 两口瓶中依次加入 20 mL 四氯化碳、284.2 mg (1.6 mmol) N-溴代丁二酰亚胺(NBS)、12.6 mg (0.077 mmol) 偶氮二异丁腈

(AIBN) 和 300 mg (0.772 mmol) 化合物 2, 回流反应 12 h。反应结束后, 反应液冷却至室温, 二氯甲烷萃取。合并有机相, 有机相经饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥。减压蒸馏除去有机溶剂, 残余物经柱层析分离得 86.76 mg 白色固体, 产率 20.2%。

4-4'-二叠氮甲基四苯基乙烯 (4) 的合成: 氮气保护下, 依次将 50 mg (0.097 mmol) 化合物 3 与 20 mL DMSO 加入到 50 mL 两口瓶中, 随后加入 15.7 mg (0.24 mmol) 叠氮化钠, 室温反应过夜。反应结束后, 反应液经二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机相, 并用饱和食盐水 (100 mL×5) 洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥, 浓缩除去有机溶剂, 剩余物经柱层析分离得 25.17 mg 白色固体, 产率 59.0%。

4-4'-二氮甲基四苯基乙烯 (5) 的合成: 室温条件下, 用 30 mL 无水 THF 溶液溶解 100 mg (0.23 mmol) 化合物 4 于 100 mL 两口瓶中, 然后在氮气保护的条件下分批将 50 mg (1.4 mmol) 四氢锂铝加入体系, 回流 8 h。反应结束后, 反应液冷却至室温, 冰浴条件下用 5~10 mL H₂O 淬灭未反应的四氢锂铝。抽滤, 滤液用乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取 3 次, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩除去有机溶剂, 剩余物经柱层析分离得到 54.3 mg 白色固体, 产率 61.5%。

4-4'-二(9-葱甲基氨基甲基)四苯基乙烯 (TPE-AN) 的合成: 氮气保护下, 向带干燥装置的两口烧瓶中加入 200 mg (0.51 mmol) 反应物 5、250 mg (1.21 mmol) 9-葱甲醛 (6)、40 mL 四氢呋喃和乙醇的混合溶液 (体积比 1:1), 加热回流 6 h。反应结束后减压浓缩除去溶剂, 固体产物未经提纯直接用于下一步反应。氮气保护下, 将上述固体产物溶于无水 THF 和甲醇的混合体系中, 冰浴条件下加入 193 mg (5.1 mmol) 硼氢化钠固体, 室温反应过夜。反应结束后, 用饱和氯化铵溶液淬灭反应, 反应体系经乙酸乙酯 (30 mL×3) 萃取 3 次, 合并有机相, 随后经饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂, 残余物经柱层析分离得 180.7 mg 黄色固体, 产率 46%。¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ : 3.96 (s, 4H); 4.62 (s, 4H); 7.08~7.09 (14br); 7.19 (d, 4H, J = 6 Hz); 7.44~7.48 (m, 8H); 7.99~8.01 (d, 4H, J = 12 Hz); 8.17 (d, 4H, J = 6 Hz); 8.40 (s, 2H)。¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz), δ : 44.64, 54.01, 76.83, 77.04, 77.26,

124.13, 124.92, 126.06, 126.47, 127.22, 127.69, 127.86, 129.11, 130.30, 131.39, 131.49, 131.52, 131.54, 138.36, 140.55, 140.84, 142.76, 143.82。MODI-TOF-MS, C₅₈H₄₆N₂, 实测值 (计算值), m/z : 770.12 (770.36) [M]⁺。

1.2.2 溶液光谱的测定

在室温 (25 °C) 条件下, 称取适量待测物溶于四氢呋喃溶液中, 配制成浓度为 0.1 mol/L 的母液。取 1 mL 母液, 用四氢呋喃和水的混合溶液稀释 10 倍, 配制成浓度为 0.01 mol/L 的待测液。考察四氢呋喃和水的体积比对光物理性能的影响。

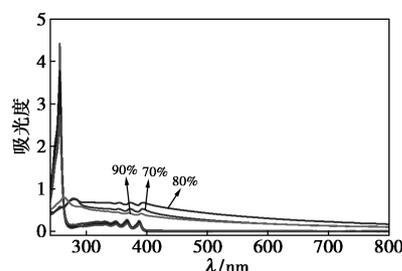
1.2.3 固体光谱的测定

在室温 (25 °C) 条件下, 取适量固体置于研钵中进行充分研磨, 考察研磨前后固体光物理性质的变化。

2 结果与讨论

2.1 TPE-AN 的聚集诱导发光特性

由于 TPE-AN 在四氢呋喃 (THF) 中具有良好的溶解度, 而在水溶液中几乎不溶, 因此可在两种溶剂的混合体系中研究化合物的聚集诱导发光特性。如图 2 所示, 紫外-可见吸收光谱研究表明, 溶液中 TPE-AN 的吸收峰主要位于 300~400 nm 之间, 当水的体积分数在 0~60% 之间时, 其吸收光谱变化不大。然而当水的体积分数增加至 70% 后, 其吸收曲线出现了一定程度的拖尾, 这可能是由于化合物聚集后形成的纳米颗粒导致了米氏光散射的原因^[24]。而水的体积分数在 80% 和 90% 时, 吸收光谱也表现出类似的特性。从而间接表明在四氢呋喃和水的混合体系中, 当水的体



曲线水的含量分别为 0%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%

图 2 TPE-AN 在四氢呋喃和水的混合体系中的紫外-可见吸收光谱图

Fig.2 UV-Vis absorption spectra of TPE-AN in the mixture of THF and water

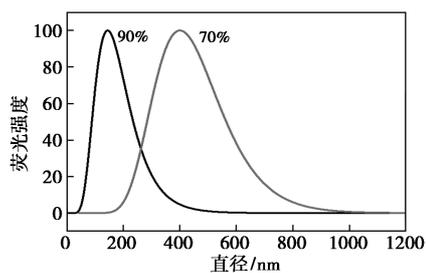
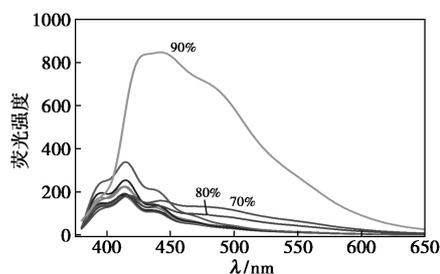


图 3 TPE-AN 在四氢呋喃和水的混合体系中的粒径分布

Fig.3 Particle size distributions of TPE-AN in the mixture of THF and water

积分分数位于 70%~90% 之间时,化合物可形成纳米聚集体。动态光散射实验进一步证明了化合物的聚集,如图 3 所示,当水的体积分数为 70% 时,所形成的纳米颗粒粒径约为 418 nm,而水的体积分数增至 90% 后,纳米颗粒尺寸下降至 158 nm。

荧光发射光谱研究表明(图 4),当水的体积分数在 0~60% 之间时,其荧光发射峰主要位于 393、415 和 440 nm 处,且随着水含量的增加变化不大。然而当水的体积分数增加至 70% 和 80% 后,化合物在 500 nm 作用产生了新的较弱的发射峰,但是当水的体积分数增加至 90% 时,化合物在 450 nm 左右表现出明显的荧光发射信号。



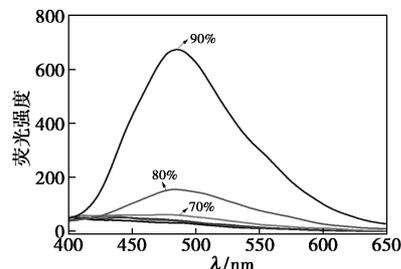
曲线水的含量分别为 0、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%

图 4 TPE-AN 在四氢呋喃和水的混合体系中的荧光发射光谱图

Fig.4 Fluorescence emission spectra of TPE-AN in the mixture of THF and water

为了进一步分析 TPE-AN 的 AIE 特性,对化合物 5 的 AIE 性质进行了分析对比。如图 5 所示,在四氢呋喃和水的混合体系中,当水的含量在 60% 以下时,未观察到明显的荧光信号。而当水的含量增至 70% 以后,化合物 5 在 485 nm 处产生了微弱的荧光发射峰,随着水含量的进一步增加,其荧光逐渐增强。当水的含量达到 90% 时,荧光强度显著增强,但其发射波长并未发生明显变化。

TPE-AN 和化合物 5 的光谱强度变化特征与大多数四苯乙烯衍生物的聚集诱导发光特性相似,均表现为分子聚集到一定程度后出现荧光强度的显著增强^[13,25]。



曲线水的含量分别为 0、40%、60%、70%、80%、90%

图 5 化合物 5 在四氢呋喃和水的混合体系中的荧光发射光谱图

Fig.5 Fluorescence emission spectra of compound 5 in the mixture of THF and water

尽管动态光散射和紫外-可见吸收光谱数据证明当水的含量在 70%~90% 时,TPE-AN 发生了聚集并形成了纳米聚集体,但是水含量为 70% 和 80% 的溶液荧光强度显著弱于 90% 的体系。如图 6 所示,将含水量为 80% 和 90% 的两种溶液放置 1 h 后,前者未表现出类似于后者的强荧光,因此水含量为 80% 的溶液的较弱荧光并非是因为分子的聚集时间不够充分,可能是由在不同溶剂体系中化合物所形成的纳米聚集体的尺寸大小和形态差异导致的^[26]。

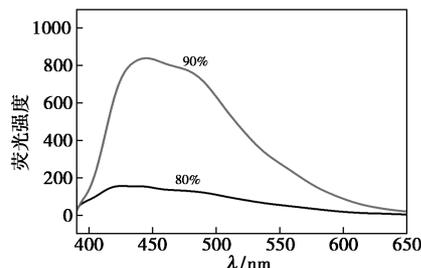


图 6 TPE-AN 在四氢呋喃和水的混合体系中放置 1 h 后的荧光发射光谱图

Fig.6 Fluorescence emission spectra of TPE-AN in the mixture of THF and water after 1 h

TPE-AN 表现出有趣的聚集诱导发光特性,当水的体积分数位于 0~60% 之间时,由于 TPE-AN 未能形成纳米聚集体,其荧光特性主要取决于荧光基团葱的单体发射,光谱的波动可能与溶液极性变化相关^[27]。而当水的体积分数在 70%~90% 之间时,化合物逐渐聚集,其在 500 nm 左右的发射信号可能来自于葱所形成的激基缔合

物^[28]。为了对此进行验证,测试了化合物 6 在四氢呋喃和水的混合体系中的发射光谱。如图 7 所示,当化合物 6 聚集后,其在 500~510 nm 左右的荧光发射强度明显增加,从而说明 TPE-AN 在 500 nm 左右的发射峰来自于荧光基团葱。对于 TPE-AN,当水的体积分数增加至 90% 后,其聚集程度达到最大,四苯乙烯的苯环旋转受到抑制,故而 460 nm 处的发光显著增强。综上所述,在 TPE-AN 的聚集过程中,分子的发光性能由葱的单体、激基缔合物和四苯乙烯的 AIE 特性共同决定。

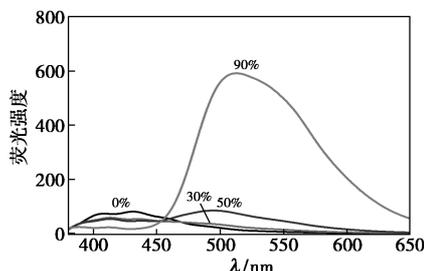


图 7 化合物 6 在四氢呋喃和水的混合体系中的荧光发射光谱图

Fig.7 Fluorescence emission spectra of compound 6 in the mixture of THF and water

2.2 TPE-AN 的机械变色特性

鉴于 TPE-AN 良好的聚集诱导发光特性,随后对其固态下的机械变色性能进行了研究。如图 8 所示,未经研磨的 TPE-AN 固体的发射波长位于 443 nm 处,经过机械研磨后,其荧光发射波长红移至 493 nm 处。研磨后的固体粉末经二氯甲烷熏蒸 1 min 左右,其荧光发射波长即可蓝移至 449 nm 处。而延长溶剂熏蒸时间至 10 min,化合物的发射波长也未能复至初始状态。

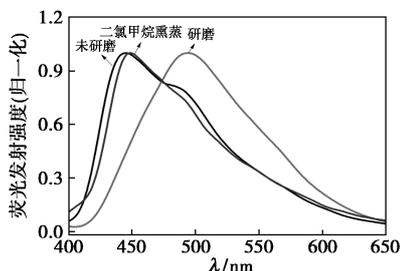


图 8 TPE-AN 固体经不同处理后的荧光发射光谱图

Fig.8 Fluorescence emission spectra of TPE-AN powder under different treatments

进一步的研究表明,机械研磨对化合物的荧光量子产率及荧光寿命产生了明显影响,研磨导致 TPE-AN 的荧光量子产率从 16.76% 下降至 4.3%。瞬态荧光光谱研究表明,TPE-AN 的荧光

寿命衰减曲线符合双指数模式,研磨前化合物在 443 nm 处的平均荧光寿命为 1.03 ns ($\tau_1 = 0.38$ ns, $\alpha_1 = 0.77$; $\tau_2 = 3.23$ ns, $\alpha_2 = 0.11$);研磨后化合物在 493 nm 处的平均荧光寿命为 6.27 ns ($\tau_1 = 2.08$ ns, $\alpha_1 = 0.53$; $\tau_2 = 10.95$ ns, $\alpha_2 = 0.47$),荧光寿命的增加可能是由于研磨改变了分子构象和堆积模式,继而影响了分子激发态的衰减路径^[29,30];经二氯甲烷熏蒸后化合物在 449 nm 处的平均荧光寿命为 2.71 ns ($\tau_1 = 0.73$ ns, $\alpha_1 = 0.57$; $\tau_2 = 5.29$ ns, $\alpha_2 = 0.43$) (图 9)。化合物 5 和 6 的荧光寿命衰减曲线分别为双指数模式和单指数模式,其最大发射波长处的荧光寿命分别为 2.19 ns ($\tau_1 = 1.24$ ns, $\alpha_1 = 0.58$; $\tau_2 = 3.51$ ns, $\alpha_2 = 0.42$) 和 4.77 ns (图 10),均不同于化合物 TPE-AN。因此化合物的荧光寿命是由分子结构、堆积方式、分子间作用力等因素共同决定的。

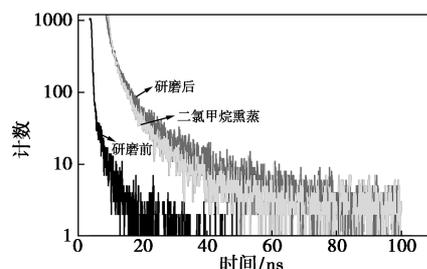


图 9 TPE-AN 经不同处理后的荧光衰减曲线

Fig.9 Fluorescence decay curve of TPE-AN powder under different treatments

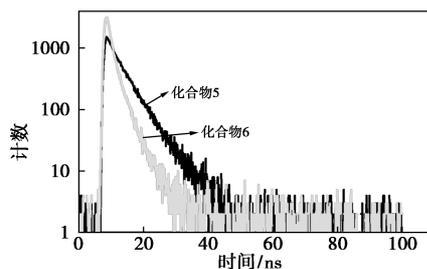


图 10 化合物 5 和 6 固体粉末经不同处理后的荧光衰减曲线

Fig.10 Fluorescence decay curve of compound 5 and 6 powder under different treatments

如图 11 所示,日光下 TPE-AN 在研磨前后固体的颜色未发生明显变化,而在 365 nm 紫外灯的照射下,其固体荧光颜色由蓝色向绿色发生了转变,经 DCM 处理后又可恢复至初始的颜色。该化合物在防伪、密保等领域具有潜在的应用前景。

XRD-粉末衍射实验表明(图 12),化合物 TPE-AN 固体在研磨前表现出较多尖锐的衍射

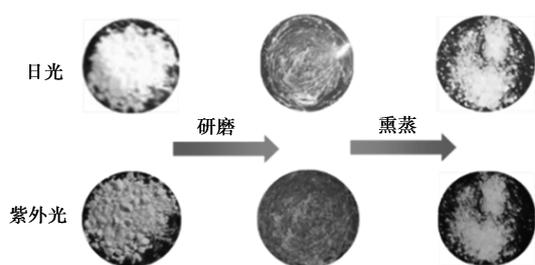


图 11 TPE-AN 经不同处理后的照片

Fig.11 Images of TPE-AN powder under different treatments

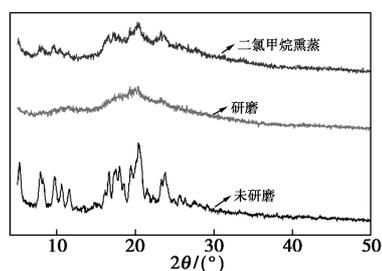


图 12 TPE-AN 经不同处理后的粉末 X-射线图

Fig.12 Powder X-ray diffraction patterns of TPE-AN powder under different treatments

峰,说明其为晶态堆积模式。研磨后尖锐的衍射峰消失,说明其向无定形态发生了转变。因此,机械研磨可导致固体由晶态向无定形态发生转变。对研磨后的固体进行二氯甲烷熏蒸后,仅部分恢复到了晶态结构,这可能是其光谱未能完全恢复至初始状态的原因。

如图 13 所示,化合物 5、6 在研磨前的发射波长分别位于 483、550 nm 左右,研磨后的荧光发射波长未发生明显的变化。因此,TPE-AN 分子的机械变色特性是由四苯乙烯和蒽单元共同决定的。对多数四苯乙烯衍生物而言,机械力刺激下分子堆积模式的改变或分子构象平面化程度的增加是其产生机械变色的主要原因。推测蒽单元的引入可能使 TPE-AN 分子形成了松散有序的堆积

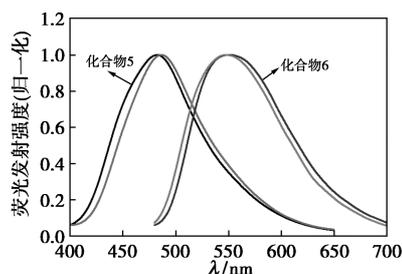


图 13 化合物 5、6 固体在研磨前后的荧光发射谱图

Fig.13 Fluorescence emission spectra of compound 5 and 6 powder before and after grinding

形态,有利于其在机械力刺激下发生分子构象和堆积模式的改变。

3 结论

本文通过在四苯乙烯单元上引入荧光基团蒽合成了化合物 TPE-AN,研究结果表明该化合物表现出有趣的聚集诱导发光特性,其发射光谱由四苯乙烯和蒽协同决定。另一方面,TPE-AN 具有机械变色特性,在机械力刺激和二氯甲烷熏蒸的作用下,化合物的荧光颜色可在蓝色和绿色间可逆变化。因此,化合物 TPE-AN 在成像、防伪和传感领域具有潜在的应用前景。

参考文献:

- [1] 李朝政,陈骏,杨金华,等.基于 TCF 的荧光探针的设计与应用研究进展[J].化学试剂,2022,44(3):339-348.
- [2] 邱勇.有机光电材料研究进展与发展趋势[J].前沿科学,2010,4(15):8-14.
- [3] 段炼,邱勇.有机发光材料与器件研究进展[J].材料研究学报,2015,29(5):321-336.
- [4] YIN J, HU Y, YOON J. Fluorescent probes and bioimaging: Alkali metals, alkaline earth metals and pH [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(14): 4 619-4 644.
- [5] LUO J, XIE Z, LAM J W Y, et al. Aggregation-induced emission of 1-methyl-1, 2, 3, 4, 5-pentaphenylsilole [J]. *Chem. Commun.*, 2001, (18): 1 740-1 741.
- [6] MEI J, LEUNG N L C, KWOK R T K, et al. Aggregation-induced emission: Together we shine, united we soar! [J]. *Chem. Rev.*, 2015, 115(21): 11 718-11 940.
- [7] HONG Y, LAM J W Y, TANG B Z. Aggregation-induced emission [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, 40(11): 5 361-5 388.
- [8] 刘向,杜宪超,顾慧莹,等.聚集诱导发光分子在毒性物质检测中的应用[J].分析实验室,2022,41(8):984-992.
- [9] 仇中选,张娟,辛飞飞.核取代萘二酰亚胺衍生物超分子自组装体系的研究进展[J].化学试剂,2022,44(5):643-652.
- [10] LA D D, BHOSALE S V, JONES L A, et al. Tetraphenyl-ethylene-based AIE-active probes for sensing applications [J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2018, 10(15): 12 189-12 216.
- [11] 杨学琴,来守军,丁媛媛,等.四苯乙烯类聚集诱导发光探针在生物分子检测领域的应用[J].发光学报,2022,43(6):961-985.
- [12] 张珍,陈佳敏,来素涵,等.基于四苯基乙烯-罗丹明的 HClO₄/ClO⁻ 可视化荧光探针的合成及性质研究[J].

- 化学试剂, 2022, **44**(4): 538-543.
- [13] ZHAO Z, CHEN S, CHAN C Y K, et al. A facile and versatile approach to efficient luminescent materials for applications in organic light-emitting diodes [J]. *Chem. Asian J.*, 2012, **7**(3): 484-488.
- [14] ZHANG G F, ALDRED M P, GONG W L, et al. Utilising tetraphenylethene as a dual activator for intramolecular charge transfer and aggregation induced emission [J]. *Chem. Commun.*, 2012, **48**(62): 7 711-7 713.
- [15] HU R, GÓMEZ-DURÁN C F A, LAM J W Y, et al. Synthesis, solvatochromism, aggregation-induced emission and cell imaging of tetraphenylethene-containing BODIPY derivatives with large Stokes shifts [J]. *Chem. Commun.*, 2012, **48**(81): 10 099-10 101.
- [16] GÓMEZ-DURÁN C F A, HU R, FENG G, et al. Effect of AIE substituents on the fluorescence of tetraphenylethene-containing BODIPY derivatives [J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2015, **7**(28): 15 168-15 176.
- [17] CHI Z, ZHANG X, XU B, et al. Recent advances in organic mechanofluorochromic materials [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**(10): 3 878-3 896.
- [18] SUN Y, LEI Z, MA H. Twisted aggregation-induced emission luminogens (AIEgens) contribute to mechanochromism materials: A review [J]. *J. Mater. Chem. C*, 2022, **10**(40): 14 834-14 867.
- [19] 赵沛然, 潘玉珍. 机械变色有机材料作为传感器的应用 [J]. *化学传感器*, 2013, **33**(2): 9-17.
- [20] XU B, CHI Z, ZHANG J, et al. Piezofluorochromic and aggregation-induced-emission compounds containing triphenylethylene and tetraphenylethylene moieties [J]. *Chem. Asian J.*, 2011, **6**(6): 1 470-1 478.
- [21] QI Q, QIAN J, TAN X, et al. Remarkable turn-on and color-tuned piezochromic luminescence: Mechanically switching intramolecular charge transfer in molecular crystals [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2015, **25**(26): 4 005-4 010.
- [22] HAN X, LIU Y, LIU G, et al. A versatile naphthalimide-sulfonamide-coated tetraphenylethene: Aggregation-induced emission behavior, mechanochromism, and tracking glutathione in living cells [J]. *Chem. Asian J.*, 2019, **14**(6): 890-895.
- [23] PENG H Q, XU J F, CHEN Y Z, et al. Water-dispersible nanospheres of hydrogen-bonded supramolecular polymers and their application for mimicking light-harvesting systems [J]. *Chem. Commun.*, 2014, **50**(11): 1 334-1 337.
- [24] LEUNG C W T, HONG Y, CHEN S, et al. A photostable AIE luminogen for specific mitochondrial imaging and tracking [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**(1): 62-65.
- [25] DONG Y, LAM Y W J, QIN A, et al. Aggregation-induced emissions of tetraphenylethene derivatives and their utilities as chemical vapor sensors and in organic light-emitting diodes [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2007, **91**(1): 11 111.
- [26] THAKSEN J, JEONG M C, BHAUSAHEB D, et al. Effect of end groups on mechanochromism and electroluminescence *n* tetraphenylethylene substituted phenanthroimidazo [J]. *J. Phys. Chem. C*, 2016, **120**(33): 18 487-18 495.
- [27] TAN C. Influence of self-assembly and solvent polarity on fluorescence properties of hydrophobic organic cations based on anthracene skeleton [J]. *Wuhan Univ. J. Nat. Sci.*, 2019, **24**(3): 238-244.
- [28] 刘海超, 高宇, 杨兵. 基于蒽的高效率 π - π 作用双分子发光: 激基缔合物再认识 [J]. *科学通报*, 2017, **62**(35): 4 099-4 112.
- [29] QI Q, ZHANG J, XU B, et al. Mechanochromism and polymorphism-dependent emission of tetrakis(4-(dimethylamino) phenyl) ethylene [J]. *J. Phys. Chem. C*, 2013, **117**(47): 24 997-25 003.
- [30] SAOTOME S, SUENAGA K, TANAKA K, et al. Design for multi-step mechanochromic luminescence property by enhancement of environmental sensitivity in a solid-state emissive boron complex [J]. *Mater. Chem. Front.*, 2020, **4**(6): 1 781-1 788.

分离提取技术

香紫苏醇发酵液中香紫苏醇的提取与纯化工艺

孙立权*, 郜玉欣, 滕茂浩

(北京理工大学 生命学院, 北京 100081)

摘要: 香紫苏醇作为合成龙涎香的中间体和配制香料的一种重要成分, 受到香料领域的大量关注。选取微波辅助法和丙酮-萃取结晶法提取和纯化香紫苏醇发酵液中的香紫苏醇。通过单因素实验和响应面法优化了香紫苏醇的提取工艺, 获得最佳提取工艺条件: 料液比为 1:25 (g/mL), 微波温度为 59 °C, 提取时间为 9.5 min, 在此条件下, 菌体的提取率为 6.26%。丙酮-萃取结晶法分离纯化提取物得到的香紫苏醇纯度为 94.20%, 回收率为 63.56%。整个提取和纯化工艺过程步骤少, 操作简单, 所用溶剂可循环利用, 对环境友好, 实验结果可为发酵法生产香紫苏醇的工业化提供参考和技术支撑。

关键词: 香紫苏醇; 发酵液; 提取; 响应面法; 纯化

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0048-06

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0251

Extraction and Purification Process of Sclareol from Sclareol Fermentation Broth SUN Li-quan*, GAO Yu-xin, TENG Mao-hao (School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: Sclareol is an important component in the synthesis and preparation of perfume, and has been focused by the experts in the spice industry. Microwave-assisted extraction method and recrystallization method with acetone were used for extracting and purifying Sclareol from the fermentation broth of Sclareol. The optimal parameters in the extraction process by single factor experiments and response surface experiment were obtained as follows: the solid-liquid ratio was 1:25 (g/mL), the microwave temperature was 59 °C, and the extraction time was 9.5 min. The extraction yield of crude Sclareol was 6.26%. The crude product was separated and purified by recrystallization method with acetone, and the purity of recrystallized Sclareol was higher than 94.20%, and the recovery yield was near to 63.56%. The whole extraction and purification process is environmentally friendly including a few steps of simple operation, and the solvent used can be recycled. The experimental results show more evidence for industrial production of Sclareol by fermentation method.

Key words: Sclareol; fermentation broth; extraction; response surface experiment; purification

香紫苏醇(也称硬尾醇)主要来自于植物香紫苏中, 是一种植物的次生长代谢二萜类化合物^[1], 常见为白色晶状粉末, 易溶于乙醇、丙酮等有机溶剂, 而难溶于水。其化学分子式是 $C_{20}H_{36}O_2$, 分子量为 308.5, 化学结构式如图 1 所示。该化合物主要用于香紫苏内酯及降龙涎香醚等天然龙涎香代用品的合成, 也可用于香料的配制, 在医药和化妆品行业均具有重要应用价值^[2,3]。

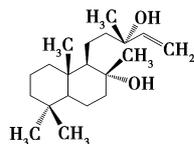


图 1 香紫苏醇结构图

Fig.1 Structure diagram of Sclareol

香紫苏醇主要通过植物提取法及微生物发酵

法两种方式获得。香紫苏的花序和茎叶中含有香紫苏醇^[4], 1928 年 Volmar 首次从香紫苏叶子中分离出香紫苏醇。至今, 从香紫苏及其他唇形科植物中提取分离香紫苏醇仍是香紫苏醇的主要生产方式。

微生物发酵法^[5]生产香紫苏醇是以葡萄糖为底物, 利用微生物(大肠杆菌或者酵母菌等), 在特定的条件下, 将底物经过特定的代谢途径转

收稿日期: 2023-04-06; 网络首发日期: 2023-10-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(22176013)。

作者简介: 孙立权(1972-), 男, 辽宁盖县人, 博士, 副教授, 主要从事生物分析分离技术研究, E-mail: slq@bit.edu.cn。

引用本文: 孙立权, 郜玉欣, 滕茂浩. 香紫苏醇发酵液中香紫苏醇的提取与纯化工艺[J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 48-53。

化为所需要的香紫苏醇。具体的途径为:葡萄糖→微生物发酵→糖酵解→乙酰辅酶 A→甲羟戊酸/磷酸赤藓糖→异戊二烯焦磷酸→香叶基焦磷酸→Class II 二萜合酶的作用→环化二萜二磷酸中间物→羟化作用→半日花烷型二萜二磷酸→在 Class I 二萜合酶→香紫苏醇^[6]。Schailk 等^[7]以大肠杆菌为宿主,结合高密度发酵技术,使大肠杆菌中香紫苏醇的浓度达到 1.5 g/L。杨薇等^[8]以酿酒酵母 BY4741ML 为宿主,利用香紫苏醇合成关键酶的生物学信息,构建了香紫苏醇的生物合成途径,使香紫苏醇产量达到 8.96 mg/L。利用微生物发酵法生产的香紫苏醇具有高特异性、高效、绿色安全等优点^[9]。从较高浓度发酵液中获得高纯度的香紫苏醇就成为生物分离工程工作者的重要任务。

本研究开发了一种从香紫苏醇发酵液中提取与纯化香紫苏醇的方法,为香紫苏醇发酵液中香紫苏醇的开发利用奠定了研究基础。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

TG16-11 型离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司);DF-15 型手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司);ISO 9001 型电子分析天平、MCR-3 型微波化学反应器(北京瑞成伟业仪器设备有限公司);KQ 5200 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);DF-101S 型恒温水浴槽(巩义市予华仪器有限公司);N-1200BV-WD 型旋转蒸发器(东京理化器械株式会社);PANNA-A60 型气相色谱仪(常州磐诺仪器有限公司);NHA-300 型氮氢空一体机(北京科普生分析科技有限公司);DZF-6032 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司)。

香紫苏醇(纯度≥99.99%,焦作市馨之源科技有限公司);正己烷、石油醚、无水乙醇、丙酮(分析纯,北京市通广精细化工公司)。

1.2 香紫苏醇的提取工艺

从香紫苏醇发酵液中提取香紫苏醇的工艺如图 2 所示。取一定量的香紫苏醇发酵液于离心管中,8 000 r/min 下离心 15 min,离心后除去上层菌液,收集菌体进行干燥,将干燥后的菌体破碎为 100~200 目的干粉。采用 3 种不同提取方式(加热回流法、超声辅助提取法、微波辅助提取法)和 3 种不同溶剂(无水乙醇、正己烷、石油醚)提取发酵液中香紫苏醇,优化提取工艺条件。GC 分析提

取液中香紫苏醇的含量,将提取液浓缩,得到香紫苏醇粗品。

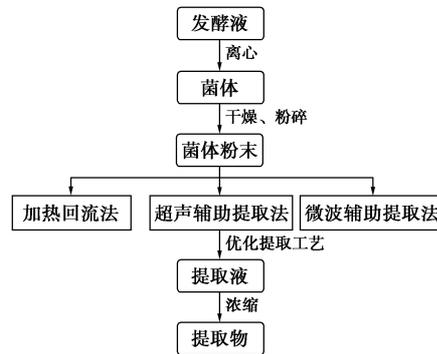


图 2 发酵液中香紫苏醇的提取工艺

Fig.2 Extraction process of Sclareol from fermentation broth

1.3 提取方法及提取溶剂的选择

1.3.1 加热回流法

准确称取 3 份 5.0 g 菌体粉末于圆底烧瓶中,按照料液比为 1:15(g/mL) 分别加入石油醚、正己烷、无水乙醇,在温度为 60 °C 下,加热回流 2 h,然后过滤,得提取液,定容至体积 V,GC 分析提取液中香紫苏醇的含量,将提取液浓缩,得到香紫苏醇粗品。

1.3.2 超声辅助提取法^[10]

准确称取 3 份 5.0 g 菌体粉末于圆底烧瓶中,按照料液比为 1:15(g/mL) 分别加入石油醚、正己烷、无水乙醇,在 40 kHz、240 W 的超声条件下,提取 20 min,然后过滤,得提取液,定容至体积 V,GC 分析提取液中香紫苏醇的含量,将提取液浓缩,得到香紫苏醇粗品。

1.3.3 微波辅助提取法^[11]

准确称取 3 份 5.0 g 菌体粉末于圆底烧瓶中,按照料液比为 1:15(g/mL) 分别加入石油醚、正己烷、无水乙醇,在微波温度为 60 °C,微波功率为 480 W 的条件下,提取 10 min,然后过滤,得提取液,定容至体积 V,GC 分析提取液中香紫苏醇的含量,将提取液浓缩,得到香紫苏醇粗品。

1.4 单因素实验

通过单因素实验探究料液比(1:5、1:10、1:15、1:20、1:25(g/mL))、微波温度(40、50、60、70、80 °C)、提取时间(1、5、10、15、20 min)、微波功率(160、320、480、640、800 W)对香紫苏醇提取率的影响,确定各参数范围,为优化微波辅助法提取发酵液中香紫苏醇的工艺参数提供依据。

1.5 响应面实验

在单因素实验基础上,根据 Box-Behnken-design 实验设计原理^[12-14],选取微波辅助提取法进行优化研究,其中料液比(A)、微波温度(B)、提取时间(C)为独立变量,以发酵液中香紫苏醇的提取率为响应值,利用软件 Design-Expert. 13.0 进行响应面实验模拟,优化微波辅助提取法提取发酵液中香紫苏醇的工艺参数,表 1 为实验因素水平和编码表。

表 1 响应面实验设计因素及水平

Tab.1 Design factors and levels of response surface experiment

独立变量	编码	水平		
		-1	0	1
料液比/(g·mL ⁻¹)	A	1:15	1:20	1:25
微波温度/°C	B	50	60	70
提取时间/min	C	5	10	15

1.6 香紫苏醇提取率的计算

通过 GC 测定,得到标准曲线的线性回归方程为: $y = 1\ 152.75x - 96.79$, $R^2 = 0.999$ 。采用标准曲线法计算提取液中香紫苏醇浓度为 $c_{\text{香紫苏醇}}$,香紫苏醇的提取率由式(1)计算。

$$E_{\text{香紫苏醇}} = [(c_{\text{香紫苏醇}} \times V) / m] \times 100\% \quad (1)$$

式中, $E_{\text{香紫苏醇}}$ 为香紫苏醇的提取率,%; V 为提取液体积,mL; m 为菌体粉末质量,g。

1.7 香紫苏醇的分离纯化

采用丙酮萃取-结晶法^[15,16],称取 5.00 g 香紫苏醇粗品于锥形瓶中,按照料液比 M (提取物): V (丙酮) = 1:4 (g/mL) 加入丙酮溶液萃取粗品中的香紫苏醇,超声萃取 20 min。然后收集滤液在温度 4 °C 下进行结晶,结晶 5 h 后,抽滤得到香紫苏醇晶体。将该晶体置于真空干燥箱中干燥至恒重,用 GC 分析其纯度。

1.8 香紫苏醇纯度及回收率计算

1.8.1 香紫苏醇的纯度计算

香紫苏醇的纯度可由式(2)计算。

$$P_{\text{香紫苏醇}} = [(c_{\text{香紫苏醇}} \times V) / (1\ 000 \times m)] \times 100\% \quad (2)$$

式中, $P_{\text{香紫苏醇}}$ 为香紫苏醇的纯度,%; $c_{\text{香紫苏醇}}$ 为 GC 分析的香紫苏醇的浓度,g/mL; V 为待测液体积,mL; m 为纯化所得的香紫苏醇的质量,g。

1.8.2 香紫苏醇的回收率计算

纯化过程中,香紫苏醇的回收率可由式(3)计算。

$$R_{\text{香紫苏醇}} = (M_{\text{纯香紫苏醇}} / M_{\text{提取物中纯香紫苏醇}}) \times 100\% \quad (3)$$

式中, $R_{\text{香紫苏醇}}$ 为香紫苏醇的回收率,%; $M_{\text{提取物中纯香紫苏醇}}$ 为提取物中香紫苏醇的含量,g; $M_{\text{纯香紫苏醇}}$ 为香紫苏醇纯品中香紫苏醇的含量,g。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂和提取方法的确定

以石油醚、正己烷、无水乙醇为提取溶剂,对比加热回流法、超声辅助提取法和微波辅助提取法对发酵液中香紫苏醇提取的影响,结果如图 3 所示。从图 3 中可以看出,最佳提取剂为无水乙醇。以无水乙醇作为提取剂时,微波辅助法的提取率要高于其他两种方法。微波辅助提取法的提取时间较短,节约了时间成本,而且短时间受热不容易破坏香紫苏醇生物活性成分^[17],因此选择微波辅助提取法作为从发酵液中提取香紫苏醇的方法。

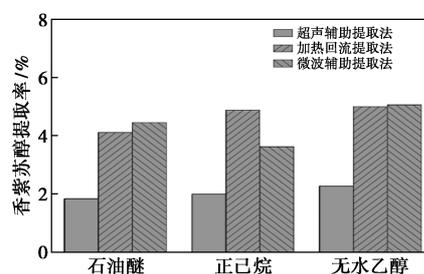


图 3 提取剂和提取方式对发酵液中香紫苏醇提取率的影响

Fig.3 Effects of extraction agent and extraction method on the extraction rate of Sclareol from fermentation broth

2.2 单因素实验结果

2.2.1 料液比对香紫苏醇提取率的影响

针对不同的料液比进行了实验研究。如图 4 所示,随着料液比的增加,香紫苏醇的提取率不断上升,当料液比超过 1:20 (g/mL) 时,香紫苏醇的提取率趋于最大值,增加不再明显。而且当料液比过大时,不仅增加实际生产成本,后处理工作也增大了难度。因此,选择 1:20 (g/mL) 作为最适料液比。

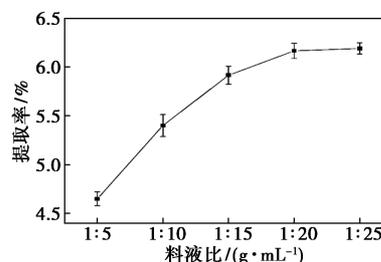


图 4 料液比对发酵液中香紫苏醇提取率的影响 ($n=3$)

Fig.4 Effects of solid-liquid ratio on the extraction rate of Sclareol in fermentation broth ($n=3$)

2.2.2 微波温度对香紫苏醇提取率的影响

微波提取温度不同也会影响香紫苏醇提取

率。如图 5 所示,随着微波温度的升高,香紫苏醇的提取率先上升后下降,当微波温度为 60 °C 时,其提取率达到最大。超过 60 °C 时,会引起香紫苏醇的生物活性成分被破坏,提取率降低。因此,选择 60 °C 作为最适微波提取温度。

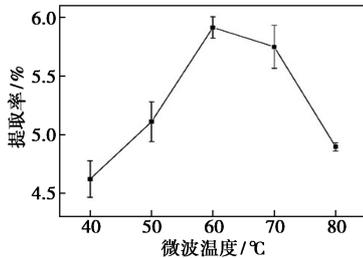


图 5 微波温度对发酵液中香紫苏醇提取率的影响 (n=3)

Fig.5 Effect of microwave temperature on the extraction rate of Sclareol from fermentation broth(n=3)

2.2.3 提取时间对香紫苏醇提取率的影响

根据微波反应机制,微波直接作用于分子,会使分子的热运动加剧,促进菌体粉末中的香紫苏醇的溶解,所以提取时间也是决定提取率的重要因素。如图 6 所示,当提取时间延长,香紫苏醇提取率先上升后下降,提取 10 min 时,香紫苏醇收率最高。当微波时间过长时,可能会破坏香紫苏醇结构,导致香紫苏醇提取率降低。因此,选择 10 min 作为最适提取时间。

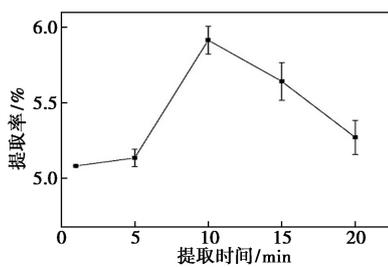


图 6 提取时间对发酵液中香紫苏醇提取率的影响 (n=3)

Fig.6 Effect of extraction time on the extraction rate of Sclareol from fermentation broth(n=3)

2.3 响应面实验优化香紫苏醇提取工艺参数

根据上述结果,选取料液比、微波温度、提取时间作为响应面实验优化微波辅助法提取香紫苏醇的 3 个因素,实验结果见表 2。运用软件 Design-Expert 8.0.6 对各因素进行二次回归拟合,建立以香紫苏醇提取率为目标的模型,二次回归方程为:

$$Y = 6.11 + 0.1788A + 0.1163B + 0.2500C - 0.1650AB - 0.0525AC - 0.0225BC - 0.0155A^2 - 0.3005B^2 - 0.2880C^2$$

表 2 Box-Behnken 设计方案及实验结果

Tab.2 Box-Behnken design scheme and experimental results

编号	料液比/ (g·mL ⁻¹)	微波温度/ °C	提取时间/ min	提取率/ %
1	1:20	70	15	5.92
2	1:15	70	10	5.88
3	1:25	60	15	6.02
4	1:20	60	10	5.98
5	1:20	60	10	6.05
6	1:20	50	5	5.07
7	1:20	60	10	6.17
8	1:20	60	10	6.22
9	1:25	70	10	6.02
10	1:15	50	10	5.23
11	1:25	60	5	5.83
12	1:20	60	10	6.11
13	1:20	50	15	5.82
14	1:25	50	10	6.03
15	1:20	70	5	5.26
16	1:15	60	15	5.88
17	1:15	60	5	5.48

拟合二次多元回归方程进行方差分析和显著性检验,结果如表 3 所示。回归模型的 $P=0.005 < 0.01$,表明该响应面模型能够较准确的反映各因素与响应值之间的关系,失拟项的 $P=0.0872 > 0.05$,表明方程的失拟项不显著,方程可靠。香紫

表 3 二次回归模型的方差分析结果^注

Tab.3 Analysis of variance of quadratic regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.77	9	0.196 2	8.54	0.005 0	**
A-料液比	0.255 6	1	0.255 6	11.13	0.012 5	*
B-提取时间	0.108 1	1	0.108 1	4.71	0.066 7	
C-微波温度	0.500 0	1	0.500 0	21.77	0.002 3	**
AB	0.108 9	1	0.108 9	4.74	0.065 9	
AC	0.011 0	1	0.011 0	0.480 0	0.510 8	
BC	0.002 0	1	0.002 0	0.088 2	0.775 2	
A ²	0.001 0	1	0.001 0	0.044 0	0.839 8	
B ²	0.380 2	1	0.380 2	16.55	0.004 8	**
C ²	0.349 2	1	0.349 2	15.20	0.005 9	**
残差	0.160 8	7	0.023 0			
失拟项	0.124 7	3	0.041 6	4.60	0.087 2	not significant
误差项	0.036 1	4	0.009 0			
总和	1.93	16				
R ²	0.916 5					
Adj R ²	0.809 2					

注: * 代表统计学差异显著 ($P < 0.05$), ** 代表统计学差异极显著 ($P < 0.01$)。

苏醇提取率模型中 $A(P < 0.05)$ 达到显著水平, C 、 B^2 、 $C^2(P < 0.01)$ 达到极显著水平, 根据 F 值的大小, 各因素对香紫苏醇的提取率大小的影响程度排序为微波温度 (C) > 料液比 (A) > 提取时间 (B)。

2.4 响应面实验结果

采用 Design-Expert 软件进行多元拟合得出响应面图和对应的等高线图。观察各因素间的交互作用对香紫苏醇提取率的影响结果。

等高线的形状和响应曲面图的陡峭程度可反映出两个因素之间的交互作用对响应值影响的显著性与否。如图 7 所示, 在实验范围内, 微波温度和料液比的变化导致香紫苏醇的提取率的改变极为显著, 这与方差分析的结果一致。在图中表现为响应面图极陡峭, 等高线图呈现极为椭圆的形状, 表明微波温度和料液比的交互作用极显著。如图 8 所示, 在实验范围内, 料液比和提取时间的变化导致香紫苏醇的提取率的改变极为显著, 这也与方差分析的结果一致。在图中表现为响应曲

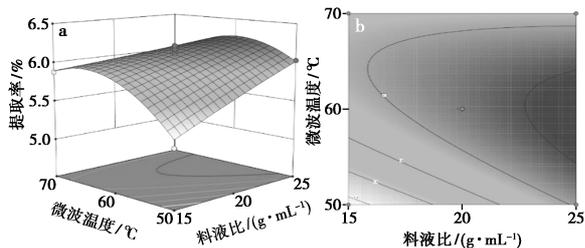


图 7 料液比和微波温度对发酵液中香紫苏醇提取率影响的响应曲面图 (a) 和等高线图 (b)

Fig.7 Response surface diagram (a) and contour diagram (b) of the effects of solid-liquid ratio and microwave temperature on the extraction rate of Sclareol from fermentation broth

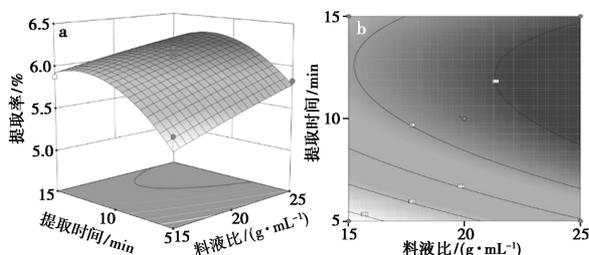


图 8 料液比和提取时间对发酵液中香紫苏醇提取率影响的响应曲面图 (a) 和等高线图 (b)

Fig.8 Response surface diagram (a) and contour diagram (b) of the effects of solid-liquid ratio and extraction time on the extraction rate of Sclareol from fermentation broth

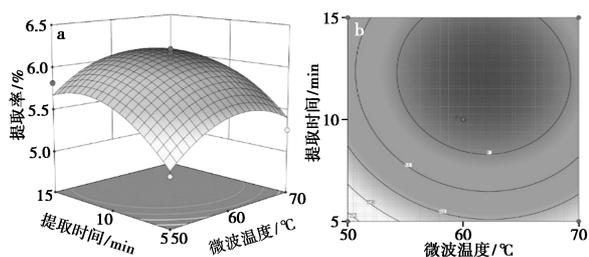


图 9 微波温度和提取时间对发酵液中香紫苏醇提取率影响的响应曲面图 (a) 和等高线图 (b)

Fig.9 Response surface diagram (a) and contour diagram (b) of the effects of microwave temperature and extraction time on the extraction rate of Sclareol from fermentation broth

面图极陡峭, 等高线图呈现为椭圆的形状, 香紫苏醇提取率的变化较为明显, 表明料液比和提取时间的交互作用较为显著。如图 9 所示, 在实验范围内, 微波温度和提取时间的变化导致香紫苏醇的提取率的改变较为显著。在图中表现为响应曲面图陡峭, 但等高线图呈现为圆形, 表明微波温度和提取时间交互作用相对较弱。

2.5 工艺优化结果与实验验证

根据响应面实验优化结果得到提取香紫苏醇的最佳提取工艺参数: 料液比为 1 : 24.56 (g/mL)、微波温度为 59.06 °C、提取时间为 9.54 min, 最终选取料液比 1 : 25 (g/mL), 微波温度为 59 °C, 提取时间为 9.5 min, 在该条件下实测香紫苏醇的提取率为 6.26%, 与预测值的误差为 0.025%, 验证了该响应面模型能够有效地应用于发酵液提取。

2.6 香紫苏醇分离纯化

经过检测, 粗品中香紫苏醇的含量为 29.8%。把粗品先经丙酮溶液萃取除去不溶杂质, 使香紫苏醇的含量增加至 78.2%, 萃取液冷冻结晶得到香紫苏醇晶体。如图 10 所示, 从提取与纯化前后色谱图对比中可以看出, 香紫苏醇晶

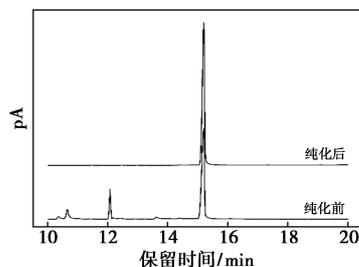


图 10 提取物纯化前后色谱图对比

Fig.10 Chromatogram comparison of extracts before and after purification

体 GC 谱图中几乎没有杂峰,香紫苏醇的纯度为 94.2%,计算得香紫苏醇的回收率为 63.56%。纯化过程中使用的丙酮已经在生产中成功地重复利用^[18]。

3 结论

香紫苏醇作为香料领域的一个重要化合物,通过发酵法生产克服了香紫苏种植的周期长和产量低等缺点,将成为主流的生产方式。其中分离纯化的方法尤为重要。本研究采用微波辅助提取法提取发酵液中的香紫苏醇,在单因素实验基础上采用响应面法优化了提取工艺参数,获得最佳提取工艺条件:料液比 1:25(g/mL),微波温度为 59℃,提取时间为 9.5 min,香紫苏醇的提取率为 6.26%,实际实验结果与数学模型预测值相符。提取物通过丙酮萃取结晶法进行分离纯化,得到纯度为 94.2%的香紫苏醇晶体,其回收率为 63.56%。纯化用溶剂丙酮已经在工业生产中重复利用,因此,本提取与纯化工艺中过程步骤少,操作简单,所用溶剂可循环利用,对环境友好,为微生物发酵法生产香紫苏醇过程中的提取与纯化步骤提供了备选工艺,优化的工艺参数为生产规模扩大实践奠定了基础。但是,所获得的优化参数在工艺放大过程中还需要进一步实践验证,可能还会遇到更多过程参数的优化问题。

参考文献:

- [1] CAMILLE C, STEPHANIE D, FRANCOISE G, et al. Sclareol and linalyl acetate are produced by glandular trichomes through the MEP pathway [J]. *Hort. Res.*, 2021, **8**(206): 1-13.
- [2] CHEN S H, WANG Y, ZHANG W L, et al. Sclareolide enhances gemcitabine-induced cell death through mediating the NICD and Glil pathways in gemcitabine-resistant human pancreatic cancer [J]. *Mole. Med. Rep.*, 2017, **15**(4): 1 461-1 470.
- [3] XU B Y, WANG K, ZHU R Z, et al. Simultaneous determination of linalool, ambrox, and sclareolide in clary sage oil by GC-MS [J]. *Chem. Lett.*, 2014, **43**(12): 1 849-1 851.
- [4] NURIA L M, THOMAS S. Salvia species as sources of natural products with antiprotozoal activity [J]. *Int. J. Mole. Sci.*, 2018, **19**(1): 1-32.
- [5] JANETTE V P, MARIAMAWIT A Y, ADRIANA F, et al. A review of the microbial production of bioactive natural products and biologics [J]. *Fron. in Micro.*, 2019, **10**: 1-27.
- [6] OH E J, JIN Y S. Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient fermentation of cellulose [J]. *FEMS Yeast Res.*, 2020, **20**(1): 1-11.
- [7] SCHAILK M, PASTORE L, MIRATA M A, et al. Toward a biosynthetic route to Sclareol and Amber odorants [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**: 18 900-18 903.
- [8] 杨薇, 周雍进, 刘武军, 等. 构建酿酒酵母工程菌合成香紫苏醇 [J]. *生物工程学报*, 2013, **29**(8): 1 185-1 192.
- [9] ZHOU Q, JIA X, LIU Y, et al. The effect of the subcritical fluid extraction on the quality of almond oils; Compared to conventional mechanical pressing method [J]. *Food Sci. Nutr.*, 2019, **7**(7): 2 231-2 241.
- [10] 臧青民, 李秋珊, 徐燕波, 等. 超声波辅助双水相体系优化橘红花总黄酮提取工艺及其抗氧化活性 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(4): 557-563.
- [11] CHAN CH H, YUSOFF R, NGOH G C, et al. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants [J]. *J. Chrom. A*, 2011, **1 218**(37): 6 213-6 225.
- [12] 崔馨戈, 张静, 袁抒捷, 等. 赤芝、紫芝孢子粉总三萜的提取工艺优化 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(10): 1 475-1 481.
- [13] LALIT K, TANVI K, RATNESH J, et al. Menthol based hydrophobic deep eutectic solvent for extraction and purification of ergosterol using response surface methodology [J]. *Food Chem.*, 2021, **340**: 1-6.
- [14] MIGUEL R H, SILVIA C, DIEGO T, et al. Extraction of phenolic compounds from cocoa shell: Modeling using response surface methodology and artificial neural networks [J]. *Sep. Puri. Tech.*, 2021, **270**: 1-14.
- [15] CHENG Q D, CHEN R Q, HE J, et al. Effect of the weather conditions during solution preparation on lysozyme crystallization [J]. *J. App. Crys.*, 2017, **50**: 1 341-1 351.
- [16] LUCJIA M B, ALES R, DSAN T, et al. The use of ultrasound in the crystallization process of an active pharmaceutical ingredient [J]. *Ultr. Sonochem.*, 2019, **58**: 1-10.
- [17] SONG H, MOON E W, HA J H. Application of response surface methodology based on a Box-Behnken design to determine optimal parameters to produce brined cabbage used in Kimchi [J]. *Foods*, 2021, **10**: 1 935.
- [18] 顾迎迎. 溶剂沉淀法制备浅色松香新工艺研究 [D]. 南宁: 广西民族大学, 2016.

微波辅助低共熔溶剂优化橘红花柚皮苷提取工艺及其对黄嘌呤氧化酶抑制活性研究

臧青民^{1,2}, 黄雅曼¹, 杨瑞清¹, 王佳蕊¹, 陈咏涓¹, 王则寻¹, 章烨雯^{*1}

(1. 玉林师范学院 生物与制药学院, 广西 玉林 537000;

2. 广西高校亚热带生物资源保护与利用重点实验室, 广西 玉林 537000)

摘要:采用微波辅助低共熔溶剂 (DES) 对橘红花中的柚皮苷进行提取, 在单因素试验结果的基础上, 采用 Box-Behnken 响应面法对提取工艺进行优化, 并研究柚皮苷对黄嘌呤氧化酶 (XOD) 的体外抑制作用。结果表明, 橘红花柚皮苷得率的最佳工艺条件为: 以氯化胆碱-乙醇为提取溶剂 (物质的量比为 1:2), 含水量 38%, 液料比 20:1 (mL/g), 微波时间 20 s, 微波功率为 350 W。在该条件下橘红花柚皮苷得率为 4.42%, 与预测值接近。体外抑制 XOD 实验结果表明, 柚皮苷对 XOD 的 IC₅₀ 为 2.229 μg/mL。提取工艺稳定可靠, 可用于橘红花柚皮苷的提取, 并且柚皮苷具有较强的抑制 XOD 活性, 为橘红花的进一步开发利用提供了科学依据。

关键词: 柚皮苷; 橘红花; 低共熔溶剂; 响应面法; 黄嘌呤氧化酶

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2023) 12-0054-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0480

Optimization of Extraction Process of Naringin from *Citrus Grandis* (L.) Osbeck Flowers by Microwave-Assisted Deep Eutectic Solvents and Inhibitory Activity against xanthine oxidase ZANG Qing-min^{1,2}, HUANG Ya-man¹, YANG Rui-qing¹, WANG Jia-rui¹, CHEN Yong-juan¹, WANG Ze-xun¹, ZHANG Ye-wen^{*1} (1. College of Biology and Pharmacy, Yulin Normal University, Yulin 537000, China; 2. Key Laboratory for Conservation and Utilization of subtropical Bio-Resources, Education Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Yulin 537000, China)

Abstract: Microwave-assisted deep eutectic solvents (DES) were employed to extract naringin from *Citrus grandis* (L.) Osbeck flowers. Based on the results of single-factor experiments, the extraction process was optimized by Box-Behnken response surface methodology, and the inhibitory of naringin against xanthine oxidase (XOD) was studied. The results showed that the optimum conditions for the extraction of naringin were as follows: choline chloride-ethanol as the extraction solvent at a molar ratio of 1:2 with a water content of 38%, the solvent-material ratio of 20:1 (mL/g), the microwave time of 20 s, and the microwave power of 350 W. Under this condition, the extraction yield was 4.42%, which was close to the predicted value. The *in vitro* results of XOD inhibition demonstrated that the IC₅₀ of naringin on OXD was 2.229 μg/mL. This extraction process is stable and reliable, which can be used for the extraction of naringin from *Citrus grandis* (L.) Osbeck flowers. Moreover, naringin has strong inhibitory against XOD. This study provides a scientific evidence for the further development and utilization of *Citrus grandis* (L.) Osbeck flowers.

Key words: naringin; *Citrus grandis* (L.) Osbeck flowers; deep eutectic solvents; response surface methodology; xanthine oxidase

橘红花系芸香科植物柚 (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) 的干燥花, 具有止咳化痰、增强免疫力的功效^[1], 常用作茶饮。柚皮苷是橘红花的主要成分之一^[2], 具有较强的抗氧化^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5,6]、防治糖尿病^[7]、防治骨质疏松^[8]等活性, 常用作食品添加剂以及合成高甜度、无毒、低能量的新型甜味剂的原材料。传统柚皮苷的提取方法主要有热水法^[9]、溶剂萃取法^[10]、碱提酸沉法^[11]等, 然而这些提取方法普遍存在耗能大、提取时间长、提取效率低、安全性低等问题。DES 是一种新型绿色溶剂^[12], 是由生物相容性良好的物质如胆碱、糖等构成, 由于提取效率高、成本低廉、环境友

好、制备方便等优点备受关注^[13,14]。微波辅助提取法利用其较强的穿透性, 胞内物质吸收能量, 温

收稿日期: 2023-07-17; 网络首发日期: 2023-10-23

基金项目: 广西科技基地和人才专项项目 (桂科 AD20159090); 玉林师范学院高层次人才科研启动基金项目 (G2018016)。

作者简介: 臧青民 (1981-), 男, 河北石家庄人, 博士, 讲师, 主要研究方向为天然活性成分的开发利用。

通讯作者: 章烨雯, E-mail: haozhangyewen@163.com。

引用本文: 臧青民, 黄雅曼, 杨瑞清, 等. 微波辅助低共熔溶剂优化橘红花柚皮苷提取工艺及其对黄嘌呤氧化酶抑制活性研究[J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 54-61。

度迅速升高,产生较高的压力,导致细胞破裂,促使胞内活性成分溶出和扩散,大幅度提高提取效率,且该方法具有较高的提取选择性^[15]。将微波提取方法与 DES 的优势相结合,可提高活性成分的提取效率^[16]。目前微波辅助 DES 法已经广泛应用于多种天然产物的提取,并取得了良好的效果^[17,18]。然而采用此方法对橘红花中柚皮苷的提取研究尚未见报道。因此,本实验采用微波辅助 DES 法从橘红花中提取柚皮苷,通过单因素试验和 Box-Behnken 响应面分析的方法,优化其提取工艺,并研究柚皮苷体外抑制黄嘌呤氧化酶的作用,以期为橘红花的开发利用提供科学依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

UV-5500 型紫外-可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);Gemini 300 型扫描电镜(德国蔡司公司);M1-L213B 型家用微波炉(广东美的厨房电器制造有限公司);2003 型电子分析天平(杭州万特衡器有限公司);LD-4 型高速离心机(西城新瑞仪器厂)。

柚皮苷标准品(≥99%,批号:N872020)、黄嘌呤氧化酶(50 U/mg,批号:X902417)、氯化胆碱、甜菜碱、乳酸、柠檬酸、酒石酸、山梨醇、木糖醇、木糖、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、果糖、尿素、乙醇、丙三醇、1,3-丙二醇、乙二醇、二乙二醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氢氧化钠、二甲基亚砜(上海麦克林生化科技有限公司);所用试剂均为分析纯。

橘红花购于广西玉林市中药材市场,经玉林师范学院陈荣教授鉴定为芸香科植物化州柚 *Citrus grandis* 'Tomentosa' 的干燥花,样品于 60 ℃ 下干燥至恒重,采用高速粉碎机进行粉碎,过 80 目筛,得到橘红花粗粉,备用。

1.2 实验方法

1.2.1 DES 的制备

将氢键受体(HBA)与氢键供体(HBD)按一定的物质的量比混合置于烧瓶中,加热至 90 ℃ 至形成稳定的透明均一溶液,共设计了 36 组不同低共熔溶剂,具体的组成见表 1。

1.2.2 提取方法

准确称取 0.2 g 橘红花粗粉置于锥形瓶中,按照不同的液料比加入不同含水量的 DES,在一定微波功率下提取一定时间,4 000 r/min 离心

10 min,取上清液。

表 1 不同类型的 DES

Tab.1 Different types of DES

类别	序号	氢键受体 (HBA)	氢键供体 (HBD)	物质的量比	含水量
有机酸基	1	氯化胆碱	乙酸	1:2	20%
	2	甜菜碱	乙酸		
	3	氯化胆碱	乳酸		
	4	甜菜碱	乳酸		
	5	氯化胆碱	柠檬酸		
	6	甜菜碱	柠檬酸		
	7	氯化胆碱	酒石酸		
	8	甜菜碱	酒石酸		
	9	氯化胆碱	苹果酸		
	10	甜菜碱	苹果酸		
糖醇基	11	氯化胆碱	山梨醇	1:2	20%
	12	甜菜碱	山梨醇		
	13	氯化胆碱	木糖醇		
	14	甜菜碱	木糖醇		
糖基	15	氯化胆碱	木糖	1:2	20%
	16	甜菜碱	木糖		
	17	氯化胆碱	葡萄糖		
	18	甜菜碱	葡萄糖		
	19	氯化胆碱	麦芽糖		
	20	甜菜碱	麦芽糖		
	21	氯化胆碱	蔗糖		
	22	甜菜碱	蔗糖		
	23	氯化胆碱	果糖		
	24	甜菜碱	果糖		
碱基	25	氯化胆碱	尿素	1:2	20%
	26	甜菜碱	尿素		
醇基	27	氯化胆碱	乙醇	1:2	20%
	28	甜菜碱	乙醇		
	29	氯化胆碱	乙二醇		
	30	甜菜碱	乙二醇		
	31	氯化胆碱	乙二醇		
	32	甜菜碱	乙二醇		
	33	氯化胆碱	丙三醇		
	34	甜菜碱	丙三醇		
	35	氯化胆碱	1,3-丙二醇		
	36	甜菜碱	1,3-丙二醇		

1.2.3 标准曲线的绘制和得率的计算

参考闫伊狄等^[19]的方法,并稍作修改。以柚皮苷标准品作为对照品,通过紫外-可见分光光度计在 420 nm 波长处测定的吸光度(y),建立与柚皮苷浓度(x)的标准曲线,得到回归方程: $y = 49.043x - 0.0114$, $R^2 = 0.9990$,表明线性关系良好。

橘红花中柚皮苷的得率采用下式进行计算:

$$\text{柚皮苷提取得率}(\%) = [(C \times N \times V) / m] \times 100\%$$

式中: C 表示样品浓度,mg/mL; N 为稀释倍数; V 为溶剂体积,mL; m 为橘红花质量,mg。

1.2.4 单因素实验

准确称取 0.2 g 橘红花粗粉,加入 DES,分别

考察 n (氯化胆碱): n (乙醇)(3:1、2:1、1:1、1:2、1:3)、含水量(10%、20%、30%、40%、50%)、液料比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1(mL/g))、微波功率(70、210、350、490、700 W)、微波时间(10、20、30、40、50 s)等各因素对橘红花柚皮苷得率的影响。

1.2.5 响应面优化试验

通过单因素实验,选取对橘红花柚皮苷得率影响较大的含水量(A)、液料比(B)和微波时间(C)作为自变量,以橘红花柚皮苷得率(Y)为响应值。在确定各因素的较优水平范围内,应用 Design-Expert 12 软件进行三水平三因素的 Box-Behnken 响应面试验设计及分析,因素水平见表 2。

表 2 因素水平表
Tab.2 Factors and levels

水平	因素		
	A:含水量/%	B:液料比/(mL·g ⁻¹)	C:微波时间/s
-1	20	15	10
0	30	20	20
1	40	25	30

对实验数据进行多元回归拟合,采用下列公式表示柚皮苷得率与各实验因素之间的函数关系:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j$$

式中:Y 为因变量, X_i 和 X_j 为自变量, X_i^2 二次项变量, $X_i X_j$ 为交互项变量, β_0 为常数, β_i 为线性系数, β_{ii} 为二次方系数, β_{ij} 为交互作用系数。

1.2.6 HPLC 分析

采用高效液相色谱法对橘红花提取物进行分析,色谱条件为:Inertsil ODS-3 C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为 V(甲醇):V(2%乙酸)=35:65,流速为 1 mL/min,进样量为 5 μL,检测波长为 283 nm。以柚皮苷甲醇溶液作为对照。

1.2.7 扫描电镜(SEM)分析

提取前和采用微波辅助 DES 提取后的样品,经洗涤干燥后,表面真空喷金,用扫描电镜在 2.0 kV 电压下测试样品的微观结构。

1.2.8 XOD 的抑制活性测试

参考谭颂严等^[20]的方法,并稍作修改。将橘红花的提取物经 D101 型大孔树脂纯化^[21]后的样品,用 PBS 溶解,配制成浓度分别为 5、10、20、40、60、80 和 100 μg/mL 的溶液。分别向各样品组中

加入 XOD 溶液(0.05 U/mL),在 37 °C 孵育 3 min 后,加入 100 μL 黄嘌呤溶液,启动反应,在波长 295 nm 下测定吸光度,平行测定 3 次,以 PBS 溶液为空白组,根据下式计算 XOD 抑制率。

$$\text{XOD 抑制率} = [(A_0 - A)/A_0] \times 100\%$$

式中: A_0 为空白组,A 为样品组。

1.2.9 分子对接

采用 Discovery Studio2019 软件预测柚皮苷与黄嘌呤氧化酶之间的相互作用。柚皮苷分子从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载,XOD(PDB ID:1N5X,2.80Å)的三维晶体结构从 Protein Data Bank(<https://www.rcsb.org/>)数据库下载。删除 XOD 中的 B 链,及其他的小分子,仅保留 A 链和 MOS,活性位点为(96.664×54.963×39.433),采用 LibDock 中的 BEST 模块进行对接,根据 LibDockScore 分析结合的稳定性。

1.2.10 数据统计分析

所有实验均重复 3 次,结果表示为平均值±标准差。使用 GraphPad Prism 8.0 软件计算 XOD 抑制的 IC₅₀。

2 结果与讨论

2.1 DES 种类的筛选

本实验中 HBA 分别选取氯化胆碱和甜菜碱,HBD 选择有机酸基、糖基、醇基、碱基和糖醇基化合物,共尝试了 36 种 DES 体系。由图 1 可以看出,醇基 DES 的提取效果最佳,其次是碱基、糖基和糖醇基,有机酸基的 DES 提取效率最低,且总的来说,氯化胆碱为 HBA 时柚皮苷提取效率比甜菜碱高。在醇基 DES 中,HBD 为乙醇、二乙二醇和 1,3-丙二醇时,橘红花柚皮苷提取得率较高,这可能是由于 DES 的极性与柚皮苷相近,其溶解性和扩散力有利于柚皮苷的溶出。综合考虑,氯化胆碱-乙醇被选作橘红花柚皮苷的最佳提取剂。

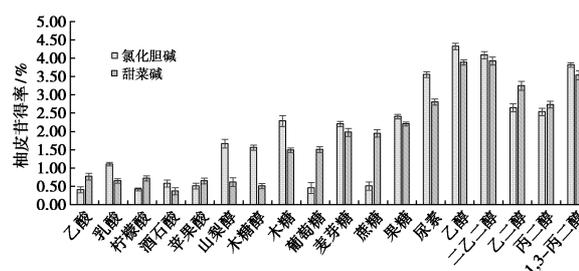


图 1 不同 DES 种类对得率的影响

Fig.1 Effect of different types of DES on the extraction yield

2.2 单因素实验结果与分析

2.2.1 DES 体系的物质的量比对橘红花柚皮苷得率的影响

DES 组分的物质的量比对柚皮苷的提取效率有直接影响。如图 2a 所示,随着乙醇的比例逐渐增大,橘红花柚皮苷提取得率呈现先增大后降低的趋势。当 $n(\text{氯化胆碱}):n(\text{乙醇})=1:2$ 时,柚皮苷的提取得率达到最大;继续增加乙醇的比例,柚皮苷得率反而下降。这可能是由于 DES 中乙醇比例较低时,HBD 较少,两组分形成的氢键较少,与柚皮苷之间的作用力较弱,致使柚皮苷溶出较少。此外,HBD(乙醇)含量较低,DES 的黏度较大,表面张力较大,活性成分的扩散能力较差。随着乙醇比例的增大,两组分间氢键增多,作用力增强,且乙醇比例增大可减少 DES 的表面张力和降低黏性,增强柚皮苷的溶出和扩散,提高柚皮苷提取得率。然而,继续增大乙醇的比例,氯化胆碱的比例越来越低,致使活性成分与溶剂之间的作用减弱,导致柚皮苷提取量的下降。综上,DES 中氯化胆碱与乙醇的最佳物质的量比为 1:2。

2.2.2 DES 体系含水量对橘红花柚皮苷得率的影响

含水量对 DES 的黏性和极性有较大的影响^[22]。由图 2b 可知,橘红花柚皮苷的提取得率随含水量的增加呈现先增大后减小的趋势。DES 中含水量由 10%提高至 40%过程中,橘红花柚皮苷提取得率随之增大,这可能是含水量较低时,氢键作用力较强,DES 黏性较大,不利于溶剂的渗透与扩散;随着含水量的增加,氢键作用力减弱,黏性减小,利于溶剂的渗透于扩散,有助于柚皮苷的溶出。当含水量为 40%时,柚皮苷提取得率达到最大值,可能是由于 DES 的作用力与黏性均有利于柚皮苷溶出,另外,也可能是溶剂的极性与柚皮苷相近。但含水量过高时,水分子可能会减弱 HBA 与 HBD 之间形成的作用力,且极性与橘红花柚皮苷相差较大,从而导致橘红花柚皮苷提取得率降低。因此,选择含水量 30%、40%和 50%作为响应面优化试验的 3 个水平。

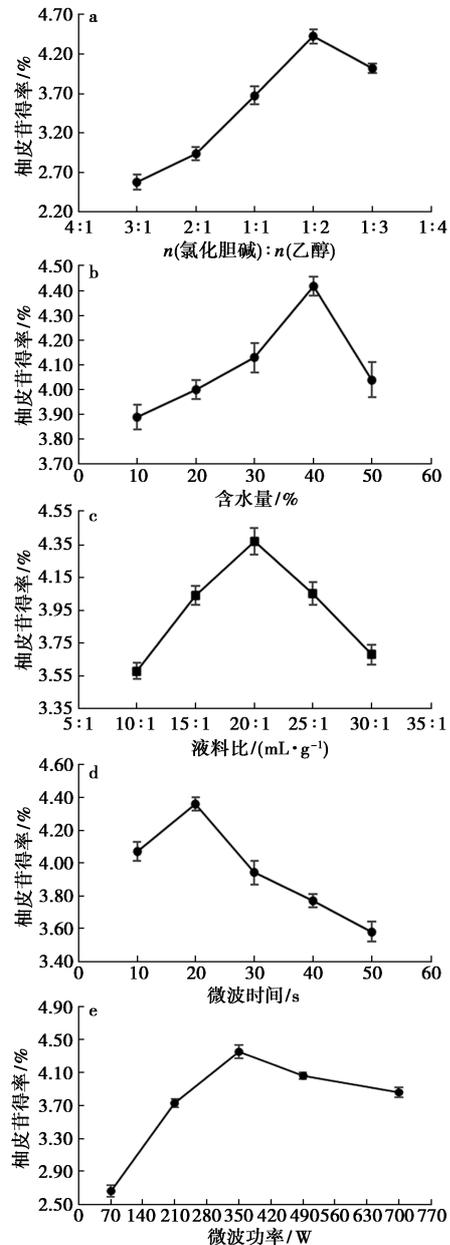
2.2.3 液料比对橘红花柚皮苷得率的影响

由图 2c 可知,橘红花柚皮苷提取得率随液料比的增大而提高,当液料比为 20:1(mL/g)时,柚皮苷提取得率达到最高值,之后随着液料比的增加,柚皮苷提取得率逐渐下降。这可能是由于提

取剂量较少时,橘红花的活性成分无法充分溶出;然而提取剂过多时,部分杂质也被溶出,导致柚皮苷的溶解度降低。因此,选择液料比为 15:1、20:1、25:1(mL/g)作为 3 个水平。

2.2.4 微波时间对橘红花柚皮苷得率的影响

由图 2d 可知,随着提取时间的延长,橘红花柚皮苷的提取得率先增加后减少。这可能是由于随着提取时间的延长,柚皮苷的溶出增多;然而提取时间过长,导致部分柚皮苷发生降解。因此,选择微波时间 10、20 和 30 s 作为后续响应面优化的 3 个水平。



a. 物质的量比; b. 含水量; c. 液料比; d. 微波时间; e. 微波功率

图 2 各单因素对提取得率的影响

Fig.2 Effects of factors on the extraction yield

2.2.5 微波功率对橘红花柚皮苷得率的影响

由图 2e 可知,橘红花柚皮苷提取得率随着微波功率的增大呈现增大后减小的趋势。在微波功率为 350 W 时,柚皮苷提取得率达到最大;继续增大微波功率,柚皮苷的得率降低。这可能是随着微波功率的增强,微波的穿透能力增强,细胞发生破裂增多,利于柚皮苷的溶出;当微波功率过大时,部分柚皮苷发生降解,导致柚皮苷提取得率降低。因此,微波的最佳功率为 350 W。

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面试验设计与结果

表 3 响应面试验设计与结果

Tab.3 Design and results of response surface experiments

序号	含水量/ %	液料比/ (mL·g ⁻¹)	微波时间/ s	柚皮苷得率/ %
1	50	20	30	4.47
2	40	20	20	4.43
3	40	20	20	3.62
4	40	25	10	3.17
5	50	20	10	3.52
6	50	15	20	3.49
7	40	15	10	3.81
8	40	25	30	4.47
9	40	15	30	3.76
10	50	25	20	3.49
11	30	15	20	3.68
12	40	20	20	4.48
13	40	20	20	4.46
14	30	20	30	3.15
15	30	20	10	3.11
16	40	20	20	3.48
17	30	25	20	3.48

利用 Design-Expert 12 软件进行回归方程拟合,得到橘红花柚皮苷提取得率的回归方程: $Y = 4.46 - 0.19A + 1.25 \times 10^{-3}B - 0.03C + 0.16AB + 0.027AC + 0.12BC - 0.61A^2 - 0.37B^2 - 0.49C^2$ 。

2.3.2 响应面结果分析

由回归模型方差分析结果可知,回归模型 P 值 < 0.01 , 表明回归模型极显著,失拟项 P 值为 $0.1441 > 0.05$, 表明不显著,说明该模型与试验有良好的拟合性。模型的 R^2 值为 0.9987 , R^2_{adj} 为 0.9971 , 表明模型拟合度较高,可以解释 99.71% 的响应值变化,表明该模型具有良好的准确度,可用于分析和预测各种因素对橘红花柚皮苷提取得率的影响。根据 P 值的大小可以得出,一次项 A、二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 和交互项 AB、BC 对橘红花柚皮苷的得率具有极显著的影响 ($P < 0.01$); 一次项 C 对柚皮苷得率有显著的影响 ($P < 0.05$); 一次项 B

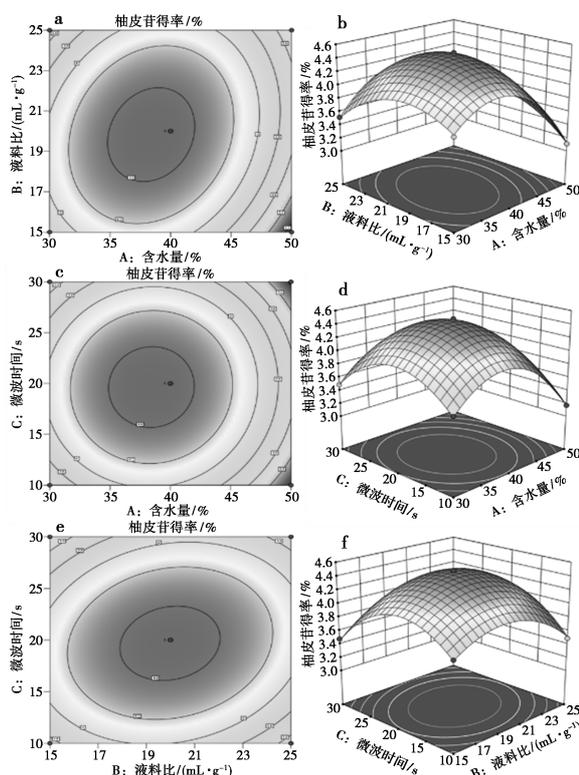
表 4 试验结果方差分析^注

Tab.4 Analysis of variance for the results

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	3.99	9	0.44	613.99	<0.0001	**
A	0.29	1	0.29	405.20	<0.0001	**
B	1.25×10^{-5}	1	1.25×10^{-5}	0.017	0.8990	#
C	7.2×10^{-3}	1	7.2×10^{-3}	9.97	0.0160	*
AB	0.11	1	0.11	150.80	<0.0001	**
AC	3.03×10^{-3}	1	3.03×10^{-3}	4.19	0.0799	#
BC	0.055	1	0.055	76.47	<0.0001	**
A ²	1.58	1	1.58	2194.53	<0.0001	**
B ²	0.57	1	0.57	791.75	<0.0001	**
C ²	1.02	1	1.02	1405.65	<0.0001	**
残差	5.06×10^{-3}	7	7.22×10^{-4}			
失拟项	3.58×10^{-3}	3	1.19×10^{-3}	3.22	0.1441	#
纯误差	1.48×10^{-3}	4	3.70×10^{-4}			
总离差	4.00	16				

注: ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$); * 表示差异显著 ($P < 0.05$); # 表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

和交互项 AC 对柚皮苷得率的影响不显著 ($P > 0.05$)。根据 F 值的大小可以判断各因素影响程度为 A(含水量) $>$ C(微波时间) $>$ B(液料比)。



a, b 为含水量-液料比的响应面图和等高线图;
c, d 为含水量-微波时间的响应面图和等高线图;
e, f 为液料比-微波时间的响应面图和等高线图

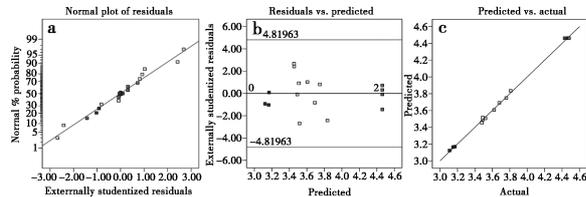
图 3 各因素交互作用的响应面图和等高线图

Fig.3 Response surface and contour of the interaction factors

响应面图和等高线图可以直观地表示各个因素对响应值的影响。等高线图越接近椭圆形,响应面图坡度越陡,表明交互作用中该因素对响应值的影响越显著^[23]。由图 3 可以看出 A 与 B、B 与 C 的之间的响应曲面坡度较陡,说明对橘红花柚皮苷提取得率影响显著;A 与 C 之间坡度较缓,表明对柚皮苷得率影响不显著。根据等高线图, A 与 B 相比,沿着 A 方向的等高线密度高,表明 A 比 B 对柚皮苷得率的影响更显著;A 与 C 相比,沿着 A 方向的等高线密度较高,表明 A 比 C 对柚皮苷得率的影响更显著。综上,A 较 B、C 对柚皮苷的影响更大,这与方差分析结果一致。

2.3.3 模型准确性分析

由图 4a 可知,数据点基本上集中的分布在一条直线之上,残差呈正态分布规律;由图 4b 可知,各个残差的分布无规则,较分散,且都在合理的范围之内,说明残差数据正常;由图 4c 可知,真实值与拟合值的数据点基本上分布在一条直线两侧,且二者数据非常接近。综上,说明本实验建立的橘红花柚皮苷的提取模型准确性较高,可用于橘红花柚皮苷的提取。



a. 残差正态分布图; b. 残差与方程预测值分布图; c. 预测值与实际值分布图

图 4 Box-Behnken 模型准确性分析

Fig.4 Accuracy analysis of Box-Behnken model

2.4 提取工艺的验证

根据 Box-Behnken 响应面试验的结果,得到柚皮苷的提取的最佳工艺条件为:含水量 38.38%,液料比为 19.8:1 (mL/g),微波时间为 19.6 s,在此条件下柚皮苷的提取得率为 4.48%。考虑到实际操作,将最佳工艺参数调整为:含水量 38%,液料比为 20:1 (mL/g),微波时间为 20 s,在此条件下,柚皮苷提取得率为 4.42%,与理论值相近,表明本实验优化得到的橘红花柚皮苷的提取工艺参数是可靠的,可用于实际提取。

2.5 橘红花提取物的 HPLC 分析结果

由图 5 可以看出,柚皮苷标准品的保留时间为 23.358 min,橘红花提取物的主要峰的保留时间为 23.508 min,通过保留时间可以断定,橘红花

提取物中的主要成分为柚皮苷。

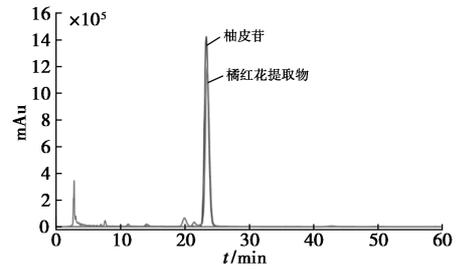


图 5 橘红花提取物与柚皮苷标准品的 HPLC 谱图

Fig.5 HPLC spectra of *Citrus grandis* (L.) Osbeck flowers extract and naringin standard

2.6 SEM 结果分析

由图 6a 可以看出,提取前的橘红花粗粉表面完整、平滑且沟壑较少,但质地比较紧密,经过微波辅助 DES 提取之后的样品(图 6b)出现较深的沟壑和卷曲结构,孔隙较大,表面变得更加疏松。这可能是由于微波的穿透作用以及 DES 的较强的溶解能力,破坏了植物的细胞壁,最大程度的释放出柚皮苷。

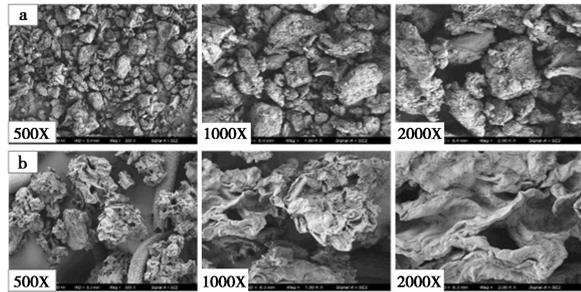


图 6 提取前(a)与提取后(b)样品的 SEM 图

Fig.6 SEM images of untreated and extracted samples

2.7 柚皮苷对 XOD 的抑制作用结果

柚皮苷对黄嘌呤氧化酶的抑制作用如图 7 所示。从图中可以看出,柚皮苷的浓度在 5 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间时,对 XOD 的抑制率随着样品浓度的升高而升高,在浓度高于 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 后,柚皮苷对 XOD 的抑制作用趋于平缓。经过计算,柚皮苷

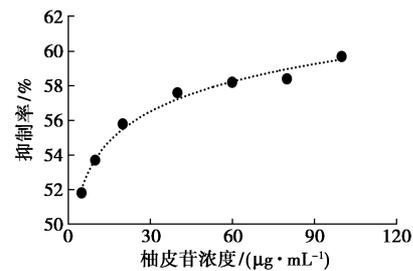


图 7 柚皮苷对 XOD 的抑制作用

Fig.7 Inhibitory effect of naringin on XOD

对 XOD 的 IC_{50} 为 $2.229 \mu\text{g}/\text{mL}$, 与文献[24]报道结果相近, 进一步表明方法的可靠性。

2.8 分子对接结果

柚皮苷与 XOD 结合的 LibDockScore 最大值为 114.513, 表明二者的结合最稳定。柚皮苷与 XOD 的相互作用的 2D 和 3D 图见图 8。柚皮苷中的酚羟基分别与 XOD 中的 SER876 和 ASP 872 形成两个常规氢键, 键长分别为 1.87 和 2.06 Å, 均少于 2.3 Å, 可显著增强二者的结合能力^[25]。TYR1140 与糖基的羟基形成传统氢键, 键长为 2.91 Å。此外, 柚皮苷中的两个苯环分别与 PHE649 和 PHE1013 形成两个 π - π T-shaped 相互作用, VAL1011 与苯环形成 π -烷基相互作用。以上作用力可能是抑制 XOD 活性的主要原因。

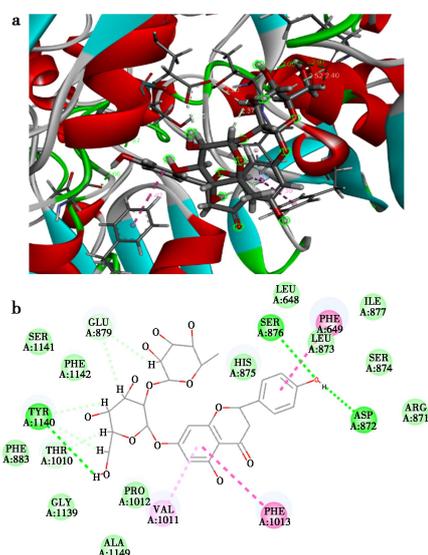


图 8 柚皮苷与 XOD 相互作用的 3D 图(a)和 2D 图(b)

Fig.8 3D diagram (a) and 2D diagram (b) of interaction between naringin and XOD

3 结论

本实验以橘红花为原材料, 采用微波辅助氯化胆碱-乙醇低共熔溶剂提取柚皮苷, 在单因素的实验结果基础上, 采用 Box-Behnken 响应面法优化了含水量、微波时间和微波温度对橘红花柚皮苷的提取工艺。结果表明, 橘红花柚皮苷得率的最佳工艺条件为: n (氯化胆碱): n (乙醇)=1:2, 含水量 38%, 液料比 20:1 (mL/g), 微波时间 20 s, 微波功率为 350 W, 在该条件下橘红花柚皮苷得率为 4.42%, 与预测值接近。经提取前与采用 DES 提取后的样品的 SEM 图像的比较, 表明微波

辅助 DES 提取法对橘红花粗粉组织的破坏程度较大。柚皮苷对 XOD 的体外抑制实验表明, 柚皮苷具有较强的抑制活性, 通过分子对接阐述了 XOD 活性主要是与柚皮苷通过 3 个传统氢键等作用力而被抑制的。本研究为橘红花的进一步开发利用提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 刘成有, 刘杰凤, 刘韩, 等. 一种化橘红花保健茶的加工方法: CN 107 821 699A [P]. 2018-03-23.
- [2] 魏燕华, 林励. 生产区对毛橘红果皮及花中柚皮苷含量的影响 [J]. 江西中医学院学报, 2009, 21(3): 77-79.
- [3] AHMED H E, REHAB F A, OSAMA K A, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of naringin isolated from *Carissa carandas L.*: *In vitro* and *in vivo* evidence [J]. *Phytomedicine*, 2018, 42: 126-134.
- [4] MOHANTY S, KONKIMALLA V B, PAL A, et al. Naringin as sustained delivery nanoparticles ameliorates the anti-inflammatory activity in a Freund's complete adjuvant-induced arthritis model [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(43): 28 630-28 641.
- [5] JOLITA S, DALIA M K, ROBERTAS L, et al. Naringin and naringenin: Their mechanisms of action and the potential anticancer activities [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(7): 1 686.
- [6] BUSHRA A, MICHAEL A, YASEEN H, et al. Suppression of colorectal carcinogenesis by naringin [J]. *Phytomedicine*, 2022, 96: 153 897.
- [7] URYASH A, MIJARES A, FLORES V, et al. Effects of naringin on cardiomyocytes from a rodent model of type 2 diabetes [J]. *Front. Pharmacol.*, 2021, 12: 719 268.
- [8] LI Y, LIU J, ZHOU H, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry method for discovering the metabolic markers to reveal the potential therapeutic effects of naringin on osteoporosis [J]. *J. Chromatog. B*, 2022, 1 194: 123 170.
- [9] KARI H, JEVGENI P, KATI S, et al. Isolation of flavonoids from aspen knotwood by pressurized hot water extraction and comparison with other extraction techniques [J]. *Talanta*, 2007, 74(1): 32-38.
- [10] 唐琴, 陈先勇, 宋航. 柚皮苷的溶剂热法提取及其抗氧化性、稳定性测定 [J]. 食品科学, 2011, 32(12): 287-291.
- [11] 赵翠然, 张晓倩, 李珠, 等. 柚皮苷提取工艺研究 [J]. 煤炭与化工, 2018, 41(6): 131-133; 144.

- [12] DHEYAB A S, ABU B M F, ALOMAR M, et al. Deep eutectic solvents (dess) as green extraction media of beneficial bioactive phytochemicals [J]. *Separations*, 2021, **8**(10):176.
- [13] 葛丹丹, 王颖臻, 张毅, 等. 新型低共熔溶剂的制备及其在分散液-液微萃取水样中臧红 T 和胭脂红的应用[J]. *分析试验室*, 2022, **41**(7):815-820.
- [14] 黄一波, 蒋磊. 低共熔溶剂在天然产物萃取中的应用进展[J]. *化学试剂*, 2022, **44**(1):10-20.
- [15] OTÁVIO A S, VITÓRIA G D S R, LUCAS D M T, et al. Combining natural deep eutectic solvent and microwave irradiation towards the eco-friendly and optimized extraction of bioactive phenolics from *Eugenia uniflora* L. [J]. *Sustain. Chem. Pharm.*, 2022, **26**:100-118.
- [16] 刘艳霞, 胡建华, 李永丽, 等. 低共熔溶剂的研究进展[J]. *现代化工*, 2022, **42**(10):51-55.
- [17] VARGAS-SERNA C L, OCHOA-MARTÍNEZ C I, VÉLEZ-PASOS C. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from pineapple peel using deep eutectic solvents[J]. *Horticulturae*, 2022, **8**(9):791.
- [18] 罗光宏, 王海蓉, 崔晶, 等. 微波辅助低共熔溶剂提取、部分纯化螺旋藻多糖及其体外生物学活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2022, **48**(11):107-113.
- [19] 闫伊狄, 孟鑫, 于小磊, 等. 柚皮中柚皮苷提取及其降血脂作用[J]. *食品科技*, 2021, **46**(12):230-236.
- [20] 谭颂严, 杨志伟. 苦丁茶总黄酮纯化工艺及其黄嘌呤氧化酶抑制活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, **43**(9):124-131.
- [21] 唐辉, 郑永葵, 钟瑞敏, 等. 优化 D101 大孔树脂脱除蜜柚柚汁中柚皮苷的工艺研究[J]. *韶关学院学报*, 2015, **36**(2):33-38.
- [22] 杨雪苗, 徐楠冰, 杨丹, 等. 超声辅助天然低共熔溶剂萃取法在蒺藜黄酮类成分提取中的应用[J]. *现代化工*, 2022, **42**(S2):239-243.
- [23] GUTIÉRREZ A, ATILHAN M, APARICIO S. Molecular dynamics study on water confinement in deep eutectic solvents[J]. *J. Mol. Liq.*, 2021, **339**:116-128.
- [24] DONG X, WANG B, CAO J, et al. Ligand fishing based on bioaffinity ultrafiltration for screening xanthine oxidase inhibitors from citrus plants [J]. *J. Sep. Sci.*, 2021, **44**:1353-1360.
- [25] WADE R C, GOODFORD P J. The role of hydrogen-bonds in drug binding [J]. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1989, **289**:433-444.

电化学和新能源

花状沸石咪唑骨架用于高效电还原二氧化碳

谷建霞^{*1}, 贺敬婷²

(1.忻州师范学院 化学系,山西 忻州 034000;2.东北师范大学 化学学院,吉林 长春 130022)

摘要:电还原二氧化碳(CO₂RR)是降低CO₂含量的有效途径之一,且构筑高活性的电催化剂是该技术的核心。锌基沸石咪唑骨架(ZIF-8)因其制备简单、形貌可控和高CO₂吸附性能备受关注。然而,ZIF-8自身CO₂还原性能不佳。基于此,该工作通过调控ZIF-8的形貌,得到花状ZIF-8(F-ZIF-8),F-ZIF-8表现出优异的CO₂电催化活性,在不加额外导电剂的前提下,生成CO的法拉第效率(FE)达到83%,是传统菱形十二面体ZIF-8(R-ZIF-8)(FE_{CO}=52%)的1.6倍。F-ZIF-8良好的催化活性与其独特的形貌密切相关,实验证明具有分级孔结构的花状形貌不仅有利于CO₂分子的吸附和传输,同时可以改善导电性,加速电子转移。此外,该电催化剂还表现出优异的稳定性,可持续稳定还原CO₂ 8 h。这种通过调节ZIF-8的形貌提高其电催化活性的策略,对于开发廉价高效的电催化剂具有重要意义。

关键词: 锌基沸石咪唑骨架;形貌调控;花状形貌;电催化;二氧化碳还原

中图分类号: TQ426 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0062-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0523

Efficient Electrocatalytic Reduction of Carbon Dioxide Using Flower-like Zeolite Imidazole Framework GU Jian-xia^{*1}, HE Jing-ting² (1.Department of Chemistry, Xinzhou Normal University, Xinzhou 034000, China; 2.Department of Chemistry, Northeast Normal University, Changchun 130022, China)

Abstract: Electrocatalytic reduction of carbon dioxide (CO₂RR) is one of the effective ways to reduce CO₂, and the construction of highly active electrocatalysts is the core of this technology. Zinc-based zeolite imidazole framework (ZIF-8) has received widespread attention due to its simple preparation, controlled morphology and high CO₂ adsorption performance. However, ZIF-8 has poor performance in CO₂ reduction. Based on this, by regulating the morphology of ZIF-8, the flower-like ZIF-8 (F-ZIF-8) has been obtained in this work, and it showed excellent CO₂ electrocatalytic activity. Without additional conductive agent, the Faraday efficiency (FE) of generated CO reaches 83%, which is 1.6 times than that of the traditional ZIF-8 with the shape of rhombic dodecahedron (R-ZIF-8) (FE_{CO} = 52%). The good catalytic activity of F-ZIF-8 is closely related to its unique morphology. The results showed that the flower-like morphology with a hierarchical pore structure not only contributes to the adsorption and transport of CO₂ molecules, but also enhanced conductivity to accelerate electrons transfer. In addition, this electrocatalyst also exhibited excellent stability, which can continuously and stably reduce CO₂ for 8 h. This strategy to improve the electrocatalytic activity of ZIF-8 by adjusting its morphology is of great significance for the development of cheap and efficient electrocatalysts.

Key words: zinc-based zeolite imidazole frame; morphology control; flower-like morphology; electrocatalysis; carbon dioxide reduction

现代工业的快速发展使得全球二氧化碳(CO₂)含量日益增加,导致了一系列严重的环境问题,如全球变暖、海平面上升和破坏自然界的碳平衡^[1,2]。然而,从另一个角度来看,二氧化碳是一种廉价且无毒的碳资源。因此,将CO₂转化为高价值化学品是降低CO₂浓度的合适途径。近年来,CO₂电还原(CO₂RR)被认为是转化CO₂最有前途的方法之一,因为它具有温和的反应条件、可控的反应步骤、绿色和可再生能源以及有利于大规模工业应用的反应器等优点^[3]。然而,CO₂分子的化学结构极其稳定,需要克服巨大的动力

学和热力学能量障碍才能完成还原。同时,CO₂的化学转化涉及多个电子和质子转移过程,导致还原过程中中间体的复杂性^[4,5]。高活性电催化

收稿日期:2023-08-02;网络首发日期:2023-10-12

基金项目:山西省青年科学研究项目(202103021223362);山西省高等学校科技创新项目(2021L450);忻州师范学院院级项目(2021KY07)。

作者简介:谷建霞(1992-),女,山西朔州人,博士,讲师,主要研究方向为电化学,E-mail:1583229616@qq.com。

引用本文:谷建霞,贺敬婷.花状沸石咪唑骨架用于高效电还原二氧化碳[J].化学试剂,2023,45(12):62-69。

剂是解决 CO₂ 电还原瓶颈问题、实现 CO₂ 高效转化的关键。

金属有机骨架 (MOF) 是一种通过有机配体和金属中心的配位在原子水平上形成的晶体多孔材料。它们具有规则的骨架结构和均匀的孔隙,在 CO₂ 电还原反应中具有巨大的应用前景^[6,7]。由锌离子源 (Zn²⁺) 和有机配体 2-甲基咪唑 (2-MeIm) 合成的锌基沸石咪唑骨架 (ZIF-8) 是经典的 MOFs 之一,制备简单、比表面积高、结构清晰明确、形态可控且 CO₂ 吸附性能高,被认为是制备高效 CO₂ 电催化剂的候选者之一^[8,9]。然而,纯 ZIF-8 作为电催化剂,CO₂ 还原性能较低。添加额外的导电剂 (炭黑) 后,CO₂ 还原成 CO 的法拉第效率 (FE) 仅为 65% (-1.14 V vs. 饱和甘汞电极 (SCE))^[8]。从目前 ZIF-8 电催化还原 CO₂ 的研究来看,ZIF-8 的催化活性可以通过金属掺杂或配体掺杂来提高,但仍有一些科学问题值得研究:金属或配体掺杂改变了 ZIF-8 本身的化学组成。新引入的金属离子和配体的精确配位环境难以表征和确定,影响活性中心的判断和催化机理的讨论。考虑到这些,在不改变 ZIF-8 化学成分的情况下提高 ZIF-8 的电催化活性将是一种很好的改进策略。

催化剂的形貌对其催化性能起着至关重要的作用^[10],形貌调控可以在不改变化学成分的情况下定制催化剂的物理/化学特性,使得不同形貌的催化剂在催化反应中表现出不同的催化活性。目前,通过不同的调控方法合成出了多种不同形貌的 MOFs 材料,如管、棒、线、花、球状等。在 MOFs 已经研究的众多形貌结构中,由 MOFs 纳米片自组装而成的花状结构具有诸多优势:(1) 有利于活性位点暴露;(2) 提高稳定性和可重复使用性。从目前的研究来看,反应介质的酸碱度对 MOFs 的结晶和生长有很大的影响。在酸碱概念的基础上,有机配体的去质子化程度,以及水溶液中羟基配体的生成和反应介质的 pH 值密切相关,即 pH 的不同会对 MOFs 形成中的配位过程产生影响,有望诱导产生花状形貌^[11-13]。

基于此,本工作通过加入三(羟甲基)氨基甲烷 (TRIS) 和盐酸,调控反应溶液的 pH,实现了 ZIF-8 形貌的精确调控。当反应溶液的 pH 为 8.92 时,得到具有花状形貌的 ZIF-8 (命名为 F-ZIF-8)。XRD、SEM 以及 FT-IR 等表征手段进一步证明 F-ZIF-8 的成功合成。将 F-ZIF-8 应用于

电催化还原 CO₂,相较于传统 ZIF-8 (菱形十二面体, R-ZIF-8), F-ZIF-8 表现出优异的催化活性,在不加额外导电剂的前提下,还原 CO₂ 生成 CO 的法拉第效率 (FE) 是 R-ZIF-8 (FE_{CO} = 52%) 的 1.6 倍,达到 83%。F-ZIF-8 之所以具有良好的催化活性,与其独特的形貌密切相关。花状形貌具有多级孔结构,有利于 CO₂ 分子的吸附和传输。除此之外,相较于 R-ZIF-8,独特的形貌提高了 F-ZIF-8 的导电性,加快电子转移,促进 CO₂ 分子的活化,进而降低过电位,提高电催化性能。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

SmartLab 型 X-射线衍射仪 (XRD, 德国 STOE 公司); PhilipsXL 型 30 E 扫描电子显微镜 (SEM, 飞利浦 (中国) 投资有限公司); Magna 560 型红外光谱仪 (FT-IR, 赛默飞世尔 (中国) 科技公司); HJ-6 型磁力搅拌器 (上海予英仪器有限公司); PHS-3C 型 pH 计 (上海雷磁有限公司); TG16-WS 型离心机 (颖上卓越电子商务有限公司); CHI760e 型电化学工作站 (上海辰华有限公司); GC2014 型气象色谱仪、GCMS-QP2020 型气质联用仪 (日本岛津公司)。

硝酸锌 (Zn(NO₃)₂·6H₂O)、2-甲基咪唑 (2-MeIm) (上海普查森生物技术有限公司); 三(羟甲基)氨基甲烷 (TRIS, 湖北魏氏化学试剂股份有限公司); 本实验所使用到的试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 的制备

先将 0.1428 g (0.48 mmol) Zn(NO₃)₂·6H₂O 溶于 20 mL 去离子水中备用,然后将 2.164 7 g (0.026 mmol) 配体 2-MeIm 溶于相同体积的去离子水中 (20 mL)。接着将两种溶液进行混合,最后在室温下搅拌反应 3 h。反应结束后,用甲醇洗涤 3 次并离心、干燥 (80 °C 的真空干燥箱)、收集,可得到白色粉末状的 R-ZIF-8。

F-ZIF-8 的合成方法类似于 R-ZIF-8,不同的是需要加入一定量的 TRIS,然后通过加入不同量的 HCl 调节溶液的 pH。具体合成过程为:0.142 8 g (0.48 mmol) Zn(NO₃)₂·6H₂O 和 0.484 5 g (4.0 mmol) TRIS 溶于 20 mL 去离子水中,然后将 2.164 7 g (0.026 mmol) 2-MeIm 溶于水中,搅拌至均匀。最后两种溶液混合均匀,室温下搅拌 3 h,离心甲醇洗涤 3 次,将固体样品放入 80 °C 烘

箱中过夜干燥。

1.2.2 表征/测试方法

在 X 射线衍射仪上测得了各样品的粉末 X 射线衍射图谱;利用扫描电子显微镜(SEM)对样品的形貌进行分析;在 ASAP 2020 Micromeritics 上得到 N_2 、 CO_2 吸附-脱附等温线用于分析样品的孔结构;在 Magna 560 型红外光谱仪上测试红外光谱分析样品的官能团。

电化学测试:在 CHI760 电化学工作站进行一系列电催化还原 CO_2 的性能测试。以 Pt 片为对电极,饱和 $Ag/AgCl$ 电极为参比电极。检测过程中的电位都需校准到可逆氢电极(vs.RHE),其校准公式为能斯特方程 $E(RHE) = E(Ag/AgCl) + 0.0591 \text{ pH} + 0.197$ 。以 CO_2 或 Ar 饱和的 $0.25 \text{ mol/L } K_2SO_4$ 溶液为电解质($\text{pH } 4.65$)。电催化还原 CO_2 过程中的气相产物采用带有 FID 和 TCD 检测器的气相色谱(GC)进行检测。电解后从电解池中取出 $1.5 \text{ mL } K_2SO_4$ 溶液,用于液相产物的测量,但并没有检测到液相产物。采用 HP6890GC-5973MSD 型气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对还原产物 CO 进行来源分析。

气相产物的法拉第效率(FE)的计算公式:

$$FE = n_{\text{product}} z F / Q$$

式中: n_{product} 为生成气相产物的物质的量; z 为还原过程中的转移电子数; F 为常数; Q 为反应过程中消耗的电量。

电极制备方法:将固体催化剂分散于 0.5% Nafion,超声 30 min 制备浓度为 8 mg/mL 的分散均匀的催化剂溶液。取 $5 \mu\text{L}$ 上述的催化剂溶液滴于玻碳电极上(GCE,直径为 3 mm),置于空气中干燥,备用。

2 结果与讨论

2.1 电催化剂的表征

根据相关文献[14],采用简单的室温搅拌法,通过加入 TRIS 和 HCl 调节 ZIF-8 反应溶液的 pH,ZIF-8 的形貌会发生变化,当溶液为 $\text{pH } 8.92$ 时,制备出了独特的花状形貌(F-ZIF-8),其合成过程如图 1 所示。扫描电镜(SEM)展示了 ZIF-8 在不同 pH 下的形貌。在没有加入 TRIS 和 HCl 的时候,ZIF-8 为传统的菱形十二面体(图 2a)。当加入 100 mmol/L TRIS 后($\text{pH } 9.40$),ZIF-8 的表面开始变得褶皱,不规则(图 2b)。这可能归因于 TRIS 的加入会影响不同晶面的生长速度。根据武尔夫法则,从热力学角度看,最稳定的晶体形

态是由不同晶面的相对表面能量决定的,即增长缓慢的一面。通常,添加性质不同的覆盖剂可以导致不同晶面生长速率的变化^[14]。当加入一定量的 HCl,ZIF-8 的表面进一步褶皱,此时溶液为 $\text{pH } 8.28$ (图 2c)。这可能源于溶液的酸碱度会影响配体 2-MeIm 的去质子化过程。当溶液为 $\text{pH } 8.54$ 时,ZIF-8 的形貌类似于含苞待放的花蕾(图 2d)。当溶液变为 $\text{pH } 8.75$ 时,ZIF-8 的形貌成为类花状,但并不规则(图 2e)。如图 2f 所示,当溶



图 1 F-ZIF-8 的合成过程示意图

Fig.1 Schematic diagram of the synthetic process of F-ZIF-8

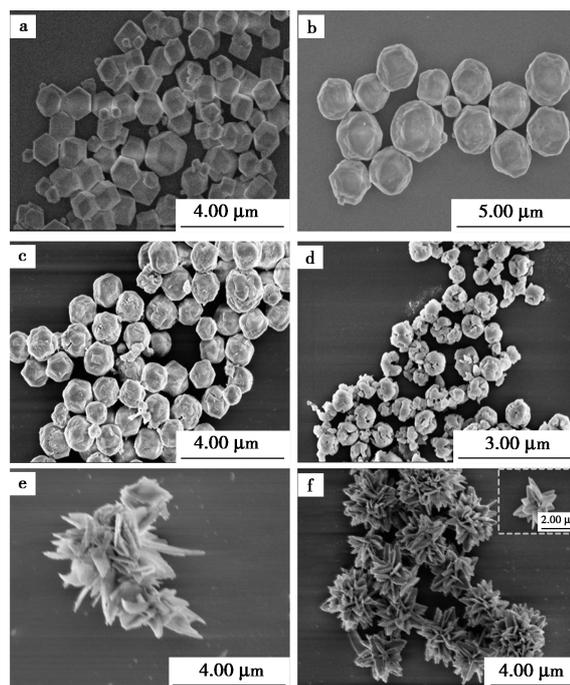


图 2 R-ZIF-8(a)、ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 9.40$)(b)、ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.28$)(c)、ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.54$)(d)、ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.75$)(e)和 F-ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.92$)(f)的扫描电镜图

Fig.2 SEM of R-ZIF-8 (a), ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 9.40$)(b), ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.28$)(c), ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.54$)(d), ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.75$)(e) and F-ZIF-8(100 mmol/L TRIS, $\text{pH } 8.92$)(f)

液为 pH 8.92 时, ZIF-8 呈现出规则有序, 边界分明的花状形貌。所以, pH 8.92 是 ZIF-8 形成独特花状形貌的最佳 pH。

图 3a 为样品的 XRD 图谱。从图中可以观察到, 花状 ZIF-8 (F-ZIF-8) 的特征峰和传统 ZIF-8 (菱形十二面体, R-ZIF-8) 完全一致, 没有出现任何杂质相的衍射峰, 且和模拟峰一一对应, 说明 TRIS 和 HCl 的加入仅仅影响 ZIF-8 的形貌, 其晶体结构不受任何影响, 也进一步证明 F-ZIF-8 的成功合成。图 3b 为不同 pH 下 ZIF-8 的 XRD 图谱, 图中明显可以看出虽然反应溶液的 pH 不同, 但并不影响 ZIF-8 的晶体结构, 其特征衍射峰和模拟峰一一匹配, 该现象再次证明反应溶液的 pH 仅仅影响 ZIF-8 的形貌。

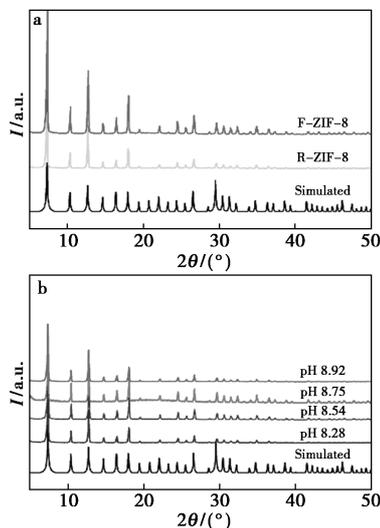


图 3 F-ZIF-8 和 R-ZIF-8 的 XRD 图 (a);
不同 pH 下 ZIF-8 的 XRD 图 (b)

Fig.3 (a) XRD patterns of F-ZIF-8 and R-ZIF-8;
(b) XRD patterns of ZIF-8 at different pH values

采用傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 对 R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 的官能团进行了表征。如图 4 所示, 显而易见, F-ZIF-8 的红外光谱和 R-ZIF-8 的几乎完全一致。3 420 cm^{-1} 附近的区域属于 O—H 键的振动^[15]。与 R-ZIF-8 相比, F-ZIF-8 在该区域有更强的峰, 这与—OH 基团有关。调控形貌后, F-ZIF-8 的孔隙结构可能发生改变, 从而凝聚更多的水分子。在 3 135 和 2 929 cm^{-1} 处观察到信号归因于咪唑配体结构与碳 (sp^2 和 sp^3) 相关的不对称 C—H 拉伸振动。此外, 在 800~1 600 cm^{-1} 处出现的特征峰是 2-甲基咪唑配体的特征峰^[16]。上述结果进一步证明调控溶液 pH 仅仅改变 ZIF-8 的形貌, 也进一步证明花状 ZIF-8 的成功合成。

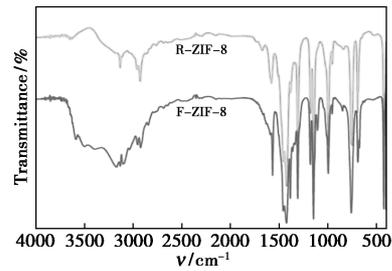


图 4 F-ZIF-8 和 R-ZIF-8 的 FT-IR 图

Fig.4 FT-IR diagrams of F-ZIF-8 and R-ZIF-8

为了研究所制备的催化剂材料的孔结构, 利用 N_2 吸附对 R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 进行表征。从 N_2 吸附-脱附曲线上可以看出, R-ZIF-8 的吸附-脱附曲线为经典的 I 型等温线, 表明 R-ZIF-8 是一种微孔材料 (图 5a), 其孔径主要分布在 1~2 nm 范围内 (图 5b)。相比之下, 花状 ZIF-8 的 N_2 吸附-脱附曲线是带有 H3 型滞留环的 IV 型等温线, 表明 F-ZIF-8 在形貌调控之后会形成介孔 (图 5a), 孔径分布曲线 (图 5b) 进一步证明了这一点, F-ZIF-8 催化剂不仅有微孔 (1~2 nm), 还存在介孔 (2~10 nm), 呈现出多级孔结构, 这样的结构有助于溶液中 $\text{CO}_2(\text{aq})$ 或 CO_2RR 相关中间物种的传输^[17], 进而加速 CO_2 的还原。催化剂对 CO_2 的吸附能力对于研究其电催化还原 CO_2 来说是很重要的。图 6 显示了 R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 的 CO_2 吸附能力, 经分析, F-ZIF-8 在室温和 101.3 Pa 的压强下, 对 CO_2 吸附量约为 14.5 cm^3/g , 而 R-ZIF-8 在相同条件下, CO_2 吸附量仅为 10.2 cm^3/g ,

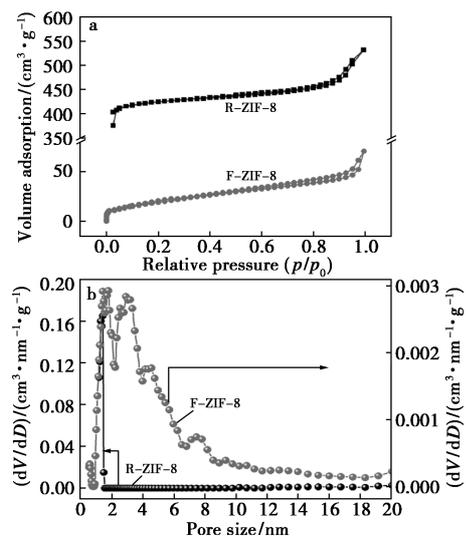


图 5 R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 的 N_2 吸附-脱附曲线 (a)
以及孔径分布图 (b)

Fig.5 N_2 adsorption-desorption curves (a) and
pore size distribution (b) of R-ZIF-8 and F-ZIF-8

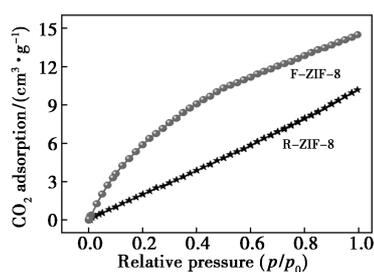


图 6 R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 的 CO₂ 吸附-脱附曲线

Fig.6 CO₂ adsorption-desorption curves of R-ZIF-8 and F-ZIF-8

表明具有分级孔结构 F-ZIF-8 为 CO₂ 的吸附或捕获提供了可利用的位点,有利于 CO₂ 还原过程的顺利进行。

2.2 电催化还原 CO₂ 测试

通过利用 H 型电解池 (Nafion117 膜) 和电化学工作站,以 R-ZIF-8 作为对照,研究了 F-ZIF-8 的电催化还原 CO₂ 性能研究。首先,在 CO₂ 和 Ar

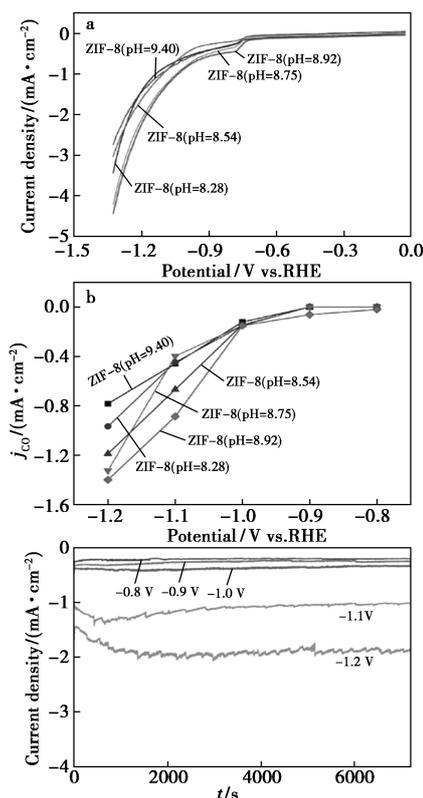


图 7 CO₂ 氛围下其他形貌 ZIF-8 (不同 pH) 的 LSVs 曲线 (a) 和 j_{CO} (b); (c) F-ZIF-8 在不同的电位下还原 CO₂ 2 h 的时间-电流 ($i-t$) 曲线

Fig.7 LSVs (a) and j_{CO} (b) of other morphologies of ZIF-8 (different pH) in CO₂ atmosphere; (c) time current ($i-t$) curves of CO₂ reduction on the F-ZIF-8 for 2 h at different potentials

饱和的 K₂SO₄ (0.25 mol/L, pH 4.65) 溶液中测试线性扫描伏安曲线 (LSVs), 通过 LSVs 评估 F-ZIF-8 的电催化活性。如图 8a 所示, 在 CO₂ 氛围中, F-ZIF-8 显示的电流密度为 4.2 mA/cm² (-1.3 V vs. RHE), 是在 Ar 氛围中的 11.9 倍, 说明 F-ZIF-8 对 CO₂ 具有催化活性。此外, F-ZIF-8 的电流密度是同 CO₂ 氛围中 R-ZIF-8 的 1.6 倍 (-1.3 V vs. RHE), 意味着 CO₂ 在 F-ZIF-8 上的还原性能明显要优于 R-ZIF-8, 这可能归因于 F-ZIF-8 独特的花状形貌, 花状形貌的多级孔结构加快 CO₂ 分子的吸附和传输, 有利于 CO₂ 分子的活化, 进而降低过电位, 提高催化性能。为了进一步证明形貌会影响 CO₂ 催化活性, 在 CO₂ 氛围下研究了其他形貌 ZIF-8 (不同 pH) 的 LSVs (图 7a), 很明显, 具有花状形貌的 F-ZIF-8, 其催化活性是最好的。为深入说明 F-ZIF-8 的 CO₂ 催化活性, 测试了各催化剂产生 CO 的部分电流密度 (j_{CO}), 图 7b 显示在不同的电位下, 相较于其他几种催化剂, F-ZIF-8

表 1 MOFs 基催化剂电还原 CO₂ 生成 CO 的性能比较

Tab.1 Comparison of performance of MOFs-based catalysts in electroreduction of CO₂ to CO

Electrocatalysts	Electrolyte	Working electrode	Faraday efficiency (FE, %)	Potential (vs. RHE)	Ref.
ZIF-8	0.5 mol/L NaCl	GCE	65	-1.14 (vs. SCE)	[8]
ZIF-8	0.25 mol/L K ₂ SO ₄	Porous electrode	81	-1.1	[19]
ZIF-108	0.25 mol/L K ₂ SO ₄	Porous electrode	52	-1.3	[19]
ligand-doped ZIF-8	0.1 mol/L KHCO ₃	Carbon paper	90	-1.2	[20]
Cu _{10%} -ZIF-8	0.1 mol/L KHCO ₃	GCE	63	-1.5 V (vs. Ag/AgCl)	[21]
Ag ₂ O/layered ZIF	0.25 mol/L K ₂ SO ₄	Porous electrode	80	-1.3	[22]
Re-MOF	0.1 mol/L TBAH in MeCN + 5% TFE	FTO	93	-1.6 (vs. NHE)	[23]
Fe-MOF-525	1 mol/L TBATF ₆ in DMF	FTO	50	-1.3 (vs. NHE)	[24]
F-ZIF-8	0.25 mol/L K ₂ SO ₄	GCE	83	-1.1	This work

(ZIF-8 (pH 8.92)) 在电还原 CO_2 方面具有大的 j_{CO} , 表明 F-ZIF-8 的 CO_2 催化活性是最好的, 也进一步说明 F-ZIF-8 优异的催化活性和其自身特殊的花状形貌密切相关^[18]。

为进一步研究 F-ZIF-8 还原 CO_2 的产物种类及选择性, 根据 LSVs 曲线, 在不同的电位 ($-0.8 \sim -1.2 \text{ V vs. RHE}$) 下分别反应 2 h, 电流-时间 ($i-t$) 如图 7c 所示, 并利用气相色谱仪和液相色谱仪检测不同电位下生成产物的种类和产量, 检测结果发现 CO_2 的还原产物主要为 CO, 无液相产物。不同电位下生成 CO 的法拉第效率 (FE) 如图 8b 所示, 随着电位的增加, 在 F-ZIF-8 上生成 CO 的法拉第效率 (FE_{CO}) 逐渐增大。但是当电位 $> -1.1 \text{ V (vs. RHE)}$ 时, FE_{CO} 反而减小, 这归因于在高电位下, 析氢反应 (HER) 的竞争明显增加。因此, -1.1 V (vs. RHE) 可以作为 F-ZIF-8 还原 CO_2 的最佳的反应电位。在该电位下, F-ZIF-8 表现出优异的 CO_2 还原活性, 对 CO 的选择性最高, 其 FE 达到 83%。作为对照, 在相同条件下评估了不同电压下 R-ZIF-8 的电催化性能 (图 8b), R-ZIF-8 电位为 -1.1 V (vs. RHE) 时, FE_{CO} 仅为 52%, 即使

外加电压增加到 -1.2 V (vs. RHE) , FE_{CO} 也仅为 66.8%。相比之下, F-ZIF-8 的电催化还原 CO_2 性能明显优于 R-ZIF-8, F-ZIF-8 之所以具有如此优异的催化活性, 很大程度上源于其特殊的花状形貌, 多级孔结构有助于 CO_2 的吸附和传输, 加速 CO_2 分子的活化。相较于近年来报道的一些 MOFs 电催化剂, 该催化剂对 CO 的选择性具有较大优势, 具体对比见表 1^[8, 19-24]。

通过电化学阻抗 (EIS) 研究 F-ZIF-8 的电子传输能力, 测试结果如图 8c 所示, 显而易见, 相较于菱形十二面体形貌的 ZIF-8 (R-ZIF-8) 而言, 花状形貌的 ZIF-8 (F-ZIF-8) 具有较小的阻抗半圆, 意味着 F-ZIF-8 更有利于电催化反应的进行, 即花状形貌增加了催化剂的导电性, 加快电子传输, 促进 CO_2 得到电子进行还原。所以, 相较于 R-ZIF-8, 形貌调控可以提高催化剂的导电性, 这也是 F-ZIF-8 表现出优异的电还原 CO_2 性能的一个重要原因^[18]。

对于反应产物 CO 是否真正来源于通入体系 CO_2 的还原, 首先通过对照实验进行验证, 即在 Ar 饱和的 K_2SO_4 电解液中, 以 F-ZIF-8 作为电催

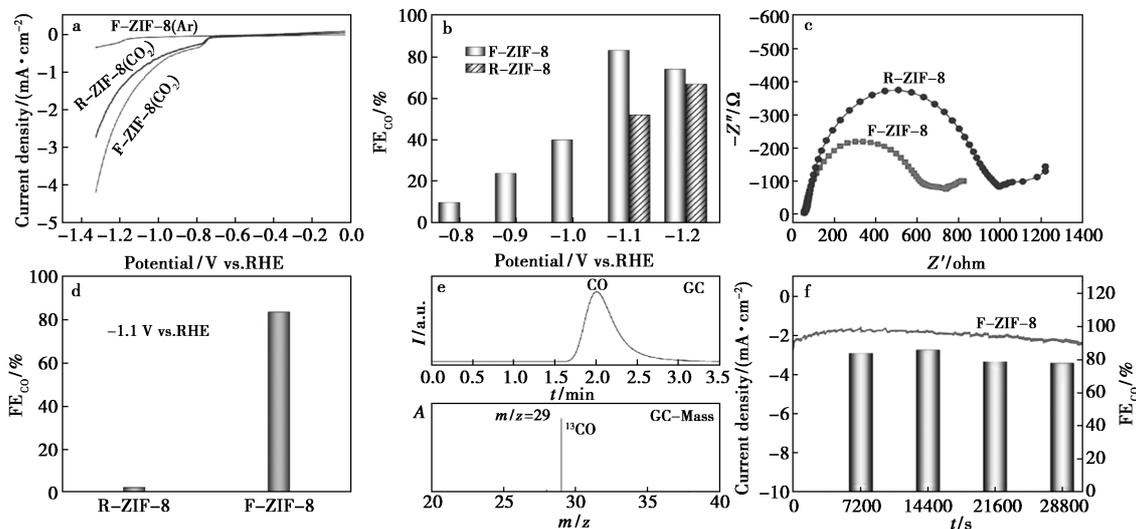


图 8 (a) R-ZIF-8 和 F-ZIF-8 在 Ar 或 CO_2 饱和的 K_2SO_4 中的 LSV 曲线; (b) 不同电位下 F-ZIF-8 和 R-ZIF-8 电催化还原 CO_2 生成 CO 的 FE; (c) F-ZIF-8 和 R-ZIF-8 的 Nyquist 图 ($0.1 \sim 100 \text{ kHz}$); (d) Ar 和 CO_2 饱和的 K_2SO_4 电解液中, F-ZIF-8 在电位为 -1.1 V (vs. RHE) 下的 FE_{CO} ; (e) $^{13}\text{CO}_2$ 标记实验及 GC 和 GC-Mass 测试结果图; (f) F-ZIF-8 在电还原 CO_2 过程中的稳定性测试

Fig. 8 (a) LSV curves of R-ZIF-8 and F-ZIF-8 in Ar or CO_2 -saturated K_2SO_4 ; (b) FEs of CO from electrocatalytic reduction of CO_2 on F-ZIF-8 and R-ZIF-8 at different potentials; (c) Nyquist plots of F-ZIF-8 and R-ZIF-8 ($0.1 \sim 100 \text{ kHz}$); (d) FE_{CO} of F-ZIF-8 in Ar and CO_2 -saturated K_2SO_4 electrolyte at the potential of -1.1 V (vs. RHE) ; (e) $^{13}\text{CO}_2$ labeling experiment and the test results graph of GC and GC-Mass; (f) Stability test of F-ZIF-8 during electroreduction of CO_2

化剂,在 -1.1 V (vs. RHE) 的外电压下反应 2 h 后,对气相产物进行分析(图 8d),发现 FE_{CO} 仅为 2%,几乎可以忽略,由此可以初步认为产物 CO 是来源于通入的 CO_2 。此外,同位素标记实验进一步严谨地证实了 CO 的来源(图 8e),在反应体系中通入 $^{13}\text{CO}_2$,经过 2 h 的反应,利用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对其产物进行测试,发现还原产物为 ^{13}CO ,所以可以确定产物 CO 确实来自通入体系的 CO_2 ^[17]。对于电催化剂而言,稳定性是评估催化剂性能的一个重要指标。基于此,通过利用电流-时间($i-t$)曲线,对 F-ZIF-8 催化剂进行了稳定性测试,并每隔 2 h 检测其反应产物。如图 8f 所示,在反应 8 h 后,其电流密度和反应产物的法拉第效率变化不大,表明该催化剂具有较好的长期稳定性^[17]。此外,为进一步证明催化剂的稳定性,对反应后的催化剂进行了 SEM 和 XRD 表征(图 9),结果发现,电解 8 h 之后,F-ZIF-8 的 SEM 和 XRD 几乎不变,维持了反应前的形貌和组分,进一步说明该催化剂具有较好的稳定性。

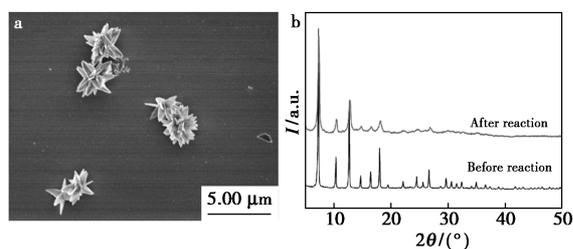


图 9 反应 8 h 后 F-ZIF-8 的 SEM(a) 和 XRD(b) 图

Fig.9 SEM (a) and XRD (b) of F-ZIF-8 after reaction for 8 h

3 结论

本工作通过调控 ZIF-8 的形貌制备出具有花状结构的 ZIF-8(F-ZIF-8)。花状形貌赋予催化剂多级孔结构,有利于 CO_2 的吸附,加速 CO_2 的活化。此外,花状形貌改善了催化剂的导电性,增加了电子在催化剂上的转移速率,有利于 CO_2 还原的动力学过程。得益于这种特殊的花状结构,相较于 R-ZIF-8,F-ZIF-8 表现出优异的 CO_2 催化活性和稳定性。这种通过调节 ZIF-8 的形貌,在不改变其化学组成的情况下提高其电子传输能力和电催化活性,将是一种非常有效的电催化剂改性策略,对于开发廉价高效的电催化剂具有重要意义。

参考文献:

- [1] WANG L M, CHEN W L, ZHANG D D, et al. Surface strategies for catalytic CO_2 reduction: From two-dimensional materials to nanoclusters to single atoms[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**(21): 5 310.
- [2] 张莉,刘林昌,朱红林.球磨制备 C/CoPc 复合材料催化 CO_2 还原反应[J]. *化学试剂*, 2021, **43**(8): 1 010-1 017.
- [3] 马静静,朱红林.CoPc/N-C 催化剂的制备及 CO_2 电催化还原[J]. *化学试剂*, 2021, **43**(3): 267-273.
- [4] AL-ROWAILI F N, JAMAL A, SHAMMAKH M S B, et al. A review on recent advances for electrochemical reduction of carbon dioxide to methanol using MOFs and non-MOFs catalysts; challenges and future prospects[J]. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2018, **6**(12): 15 895.
- [5] KARAPINAR D, CREISSEN C E, SCHREIBER M W, et al. Electrochemical CO_2 reduction to ethanol with copper-based catalysts[J]. *ACS Energy Lett.*, 2021, **6**(2): 694.
- [6] SHAO P, YI L C, CHEN S M, et al. Metal-organic frameworks for electrochemical reduction of carbon dioxide: The role of metal centers[J]. *J. Energy. Chem.*, 2020, **40**: 156.
- [7] 高春,张松涛,庞欢.金属-有机骨架/石墨烯基复合材料在电化学领域的应用[J]. *化学试剂*, 2022, **44**(10): 1 482-1 490.
- [8] WANG Y L, HOU P F, WANG Z, et al. Zinc imidazolate metal-organic frameworks (ZIF-8) for electrochemical reduction of CO_2 to CO [J]. *ChemPhysChem*, 2017, **18**(22): 3 142.
- [9] WANG B, COTE A P, FURUKAWA H, et al. Colossal cages in zeolitic imidazolate frameworks as selective carbon dioxide reservoirs[J]. *Nature*, 2008, **453**: 207.
- [10] LI Y W, LU M T, WU Y H, et al. Morphology regulation of metal-organic framework-derived nanostructures for efficient oxygen evolution electrocatalysis [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2020, **8**(35): 18 215.
- [11] HUANG C, GU X Y, SU X Y, et al. Controllable synthesis of Co-MOF-74 catalysts and their application in catalytic oxidation of toluene[J]. *J. Solid. State. Chem.*, 2020, **289**: 121 497.
- [12] ZHENG S S, LI B, TANG Y J, et al. Ultrathin nanosheet-assembled $[\text{Ni}_3(\text{OH})_2(\text{PTA})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hierarchical flowers for high-performance electrocatalysis of glucose oxidation reactions [J]. *Nanoscale*, 2018, **10**(27): 13 270.
- [13] QIN L, ZHAO C S, FAN C R, et al. A photosensitive metal-organic framework having a flower-like structure for effective visible light-driven photodegradation of rho-

- damine B[J].*RSC Adv.*, 2021, **11**(30): 18 565.
- [14] ZHENG G C, CHEN Z W, SENTOSUN K, et al. Shape control in ZIF-8 nanocrystals and metal nanoparticles@ZIF-8 heterostructures [J]. *Nanoscale*, 2017, **9**(43): 16 645.
- [15] SUN S W, YANG Z H, CAO J, et al. Copper-doped ZIF-8 with high adsorption performance for removal of tetracycline from aqueous solution [J]. *J. Solid. State. Chem.*, 2020, **385**: 121 219.
- [16] CAO J, SUN S W, LI X, et al. Efficient charge transfer in aluminum-cobalt layered double hydroxide derived from Co-ZIF for enhanced catalytic degradation of tetracycline through peroxymonosulfate activation [J]. *Chem. Eng. J.*, 2020, **382**: 122 802.
- [17] GU J X, HE J T, ZHENG H Y, et al. Morphology control in the synthesis of $[Mo_3S_{13}]^{2-}/Co-MOF-74$ composite catalysts and their application in the oxygen evolution reaction [J]. *New. J. Chem.*, 2023, **47**(18): 8 507-8 514.
- [18] JIANG X L, LI H B, XIAO J P, et al. Carbon dioxide electroreduction over imidazolate ligands coordinated with Zn(II) center in ZIFs [J]. *Nano Energy*, 2018, **52**: 345-350.
- [19] DOU S, SONG J J, XI S B, et al. Boosting electrochemical CO₂ reduction on metal-organic frameworks via ligand doping [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, **58**(12): 4 041-4 045.
- [20] AHMAD A, IQBAL N, NOOR T, et al. Cu-doped zeolite imidazole framework (ZIF-8) for effective electrocatalytic CO₂ reduction [J]. *J. CO₂ Util.*, 2021, **48**: 101 523.
- [21] JIANG X L, WU H H, CHANG S J, et al. Boosting CO₂ electroreduction over layered zeolitic imidazolate frameworks decorated with Ag₂O nanoparticles [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2017, **5**(36): 19 371-19 377.
- [22] YE L, LIU J X, GAO Y, et al. Highly oriented MOF thin film-based electrocatalytic device for the reduction of CO₂ to CO exhibiting high faradaic efficiency [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2016, **4**(40): 15 320-15 326.
- [23] HOD I, SAMPSON M D, DERIA P, et al. Fe-porphyrin-based metal-organic framework films as high-surface concentration, heterogeneous catalysts for electrochemical reduction of CO₂ [J]. *ACS Catal.*, 2015, **5**(11): 6 302-6 309.
- [24] GU J X, ZHAO X, SUN Y, et al. A photo-activated process cascaded electrocatalysis for the highly efficient CO₂ reduction over a core-shell ZIF-8@Co/C [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2020, **8**(32): 16 616-16 623.

化学品与环境

聚乙烯亚胺改性生物炭对水中甲醛的吸附特性及影响因素研究

赵苏亚^{1,2,3}, 刘哲², 王永硕², 吕喜凤^{1,2,3}, 欧明^{*2,3}

(1.新疆维吾尔自治区教育厅普通高等学校现代农业工程重点实验室,新疆阿拉尔 843300;

2.塔里木大学 化学化工学院,新疆阿拉尔 843300;3.新疆兵团南疆化工资源利用工程实验室,新疆阿拉尔 843300)

摘要:利用聚乙烯亚胺(PEI)通过浸渍处理玉米芯活性炭(AC)制备 PEI 改性 AC(PEI-AC),并将 PEI-AC 用于吸附工业废水中的甲醛。采用单因素静态实验对影响吸附的 4 个主要因素(吸附剂投加量、pH 值、初始浓度和吸附时间)进行分析,并结合吸附过程的动力学特征以及 SEM、FT-IR 和 XRD 等特性表征对吸附机理进行了初步探究。研究表明,当 PEI-AC 的投加量为 0.3 g、pH 2、初始浓度为 10 mol/L 且吸附时间为 2 h 时,PEI-AC 对甲醛的吸附量为 5.92 mg/g,吸附率高达 89.2%,而在相同条件下未改性 AC 对甲醛的吸附率仅为 42.2%。因此,PEI 改性可以极大地提高 AC 对甲醛的吸附能力。利用准一级、准二级及内扩散动力学模型对 PEI-AC 吸附甲醛的过程进行拟合,结果发现该吸附过程符合准二级动力学模型;进一步采用 Langmuir 和 Freundlich 模型对等温吸附过程进行描述,研究表明,该吸附过程符合 Langmuir 模型,饱和吸附量为 5.79 mg/g。

关键词:聚乙烯亚胺;改性;生物炭;甲醛;吸附

中图分类号: O69 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0070-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0535

Study on Adsorption Characteristics and Influencing Factors of Polyethyleneimine Modified Biochar Towards Formaldehyde in Water ZHAO Su-ya^{1,2,3}, LIU Zhe², WANG Yong-shuo², LV Xi-feng^{1,2,3}, OU Ming^{*2,3} (1.Key Laboratory of Modern Agricultural Engineering, Education Department of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Alar 843300, China; 2.School of Chemistry and Chemical Engineering, Tarim University, Aral 843300, China; 3.Chemical Resources Utilization Engineering Laboratory of Xinjiang Corps, Alar 843300, China)

Abstract: Polyethyleneimine (PEI) was employed to modify corncob derived activated carbon (AC) to prepare PEI-AC by impregnation, and PEI-AC was used to adsorb formaldehyde in industrial wastewater. The four main factors (adsorbent dosage, pH value, initial concentration and adsorption time) affecting the adsorption were analyzed by single factor static experiment, and the adsorption mechanism was preliminarily explored by combining the dynamic characteristics of the adsorption process and characterization such as electron microscopy (SEM), Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) and X-ray diffraction (XRD). The results indicated that when the dosage of PEI-AC was 0.3 g, pH 2, initial concentration was 10 mol/L, and adsorption time was 2 h, the adsorption capacity of PEI-AC for formaldehyde was 5.92 mg/g with the adsorption rate of formaldehyde up to 89.2%, while the adsorption rate of unmodified AC for formaldehyde was only 42.2% under the same condition. Therefore, PEI modification can greatly improve the adsorption capacity of AC for formaldehyde. The adsorption process of formaldehyde by PEI-AC was fitted using quasi-first-order, quasi-second-order, and internal diffusion kinetic models. The results indicated that the adsorption process conformed to the quasi-second-order kinetic model. Furthermore, the adsorption process was also described by Langmuir and Freundlich models, and the results showed that the process was more in line with Langmuir equation with the saturated adsorption capacity of 5.79 mg/g.

Key words: polyethyleneimine; modification; biochar; formaldehyde; adsorption

收稿日期:2023-08-11;网络首发日期:2023-10-12

基金项目:现代农业工程重点实验室开放课题项目(TDNG2021202);塔里木大学校长基金项目(TDZKSS202003,TDZKSS202125)。

作者简介:赵苏亚(1992-),女,河南周口人,硕士,讲师,主要研究方向为生物质资源转化。

通讯作者:欧明, E-mail: 734828971@qq.com。

引用本文:赵苏亚,刘哲,王永硕,等.聚乙烯亚胺改性生物炭对水中甲醛的吸附特性及影响因素研究[J].化学试剂,2023,45(12):70-76。

甲醛(HCHO)作为生产原料和中间体被广泛应用于工业生产中的物质合成与制备,因此,工业生产产生大量含甲醛的废水^[1,2]。含有甲醛的废水排放到自然水体中难以降解并逐渐累积,这将严重污染环境,如果人体接触甚至饮用这些废水后,会对身体造成极大危害^[3]。目前废水中甲醛的处理方法主要有活性污泥法、芬顿试剂法、光催化氧化法、吸附法等^[4-7],其中,吸附法以其成本低、操作简单、效率高等优点得到了广泛的应用。生物炭作为吸附剂引起了环境、农学、材料、化工等领域的极大关注^[8-10]。玉米芯含有丰富的天然有机物,可作为反硝化固体外加碳源,释碳性能稳定,具有吸水性强、组织均匀、韧性好、硬度适宜和耐磨性好等优点,是一种可回收利用的资源^[11,12]。但目前绝大部分的玉米芯被当作燃料烧掉、丢弃或被廉价出售后当作沤肥,不仅造成资源浪费,也造成了严重污染。因此,国内外很多研究者将其制成生物炭吸附材料,结果表明其具有良好的吸附作用^[13,14]。如徐荣声等^[15]以玉米芯为原料,利用氯化锌-水蒸气来协同活化玉米芯制备生物炭,并将其用于亚甲基蓝的吸附。结果表明改性生物炭对亚甲基蓝的吸附量达到了 536.94 mg/g。袁渊^[16]以玉米芯为原料,并利用高温炭化、氯化锌活化等方式对其进行炭化改性,制备的炭化玉米芯吸附材料对甲醛的吸附效果大大提升。由此可见,利用玉米芯制备的生物炭基多孔材料进行适当的物理或者化学改性可以有效提高多孔材料对甲醛吸附效率。虽然玉米芯制备的生物炭在吸附方面表现出一定的效果,但其吸附性能仍需有提升空间。

聚乙烯亚胺(PEI)是一种具有多功能的高分子材料,在水溶液中,以分子形式存在,其本身不适合作为吸附材料,但是可以改性多种材料。Zhang 等^[17]通过浸渍法制备了 PEI 改性活性炭(AC)得到 PEI-AC,并将其用于气态甲醛的吸附。结果表明,PEI-AC 对甲醛的吸附量为未改性活性炭的 1.67 倍。高红亮^[18]用 PEI 对 AC 进行改性,将其用于废水中 Cd(II)的吸附,结果显示 PEI/AC 对 Cd(II)的吸附主要发生在 PEI/AC 表面的—NH 和—NH₂,吸附量达到了 45 mg/g,较未改性活性炭提高了 35 mg/g。可见,利用 PEI 对活性炭改性,可以有效地吸附水中的污染物,其在处理废水方面有着广泛的潜力^[19-21]。

本研究选择废弃玉米芯作为原料,并通过

PEI 活化处理,制备出一种改性的生物质炭材料 PEI-AC,进一步分析其理化性质及表征结构,考察研究不同因素对其吸附甲醛能力的影响,旨在为废弃生物质作为吸附材料在处理含甲醛工业废水方面提供理论依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Regulus8100 型扫描电子显微镜(日本 HITACHI 公司);Regulus8100 型 X 射线能谱仪(美国 EDAX 公司);TENSOR-27 型傅里叶红外光谱仪(德国布鲁克公司)。

聚乙烯亚胺(C₂H₅N)、乙酸铵(CH₃COONH₄)、甲醛(HCHO)、乙酰丙酮(C₅H₈O₂)、冰乙酸(CH₃COOH)(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司)。

本实验所用原材料为农一师八团玉米地提供。

1.2 实验过程

1.2.1 材料的工业分析

采用空气干燥法(标准 GB/T 211—2007^[22])测定玉米芯水分含量;灰分以及挥发物的测定按照标准 GB/T 212—2008^[23]测定。

1.2.2 改性生物炭的制备和表征方法

采用粉碎机先将玉米芯粉碎,然后超声波清洗 20 min 后,再放入鼓风干燥箱 70 °C 干燥 12 h,经过 80 目筛子筛选后,在马弗炉 700 °C 下加热 2 h,得到炭化玉米芯,记为 AC。在无水乙醇中加入适量的 PEI,并利用磁力搅拌器搅拌 15 min,再将 AC 与 PEI 溶液按照不同浸渍比例(质量比 0.05:1、0.1:1、0.15:1、0.2:1、0.25:1)混合搅拌 20 min,在此之后,样品置于超声波清洗器中超声处理 20 min,将得到的样品放入烘箱中,在温度为 70 °C 的条件下连续干燥 24 h。烘干后的样品用去离子水反复清洗 6~8 次,再于烘箱内(55 °C)烘干得到 PEI 改性 AC,记为 PEI-AC。

采用 TENSOR-27 傅里叶红外光谱仪对样品进行表面官能团信息测试;使用 D8 ADVANCE X-射线衍射分析仪对样品的晶型结构进行了研究和评估,采用 Cu 靶作为发射源,并将管电压设置为 40 kV,管电流设定为 60 mA,以 5°/min 的速率进行扫描,并在 10°~80°的范围内进行了扫描;利用 QUANTA Q400 扫描电子显微镜对材料表面的微观结构进行了详细的分析和表征。

1.3 吸附甲醛实验

将一定量的 PEI-AC 和一定浓度的甲醛溶液分别放入 250 mL 锥形瓶中,再将其置于 25 °C 的恒温水槽中,并以 180 次/min 进行振荡一段时间后取出,使用滤纸过滤,并通过紫外分光光谱仪分析甲醛溶液的浓度。采用紫外分光光度法,测定 414 nm 处的甲醛浓度,探究初始浓度以及溶液 pH 等因素对 PEI-AC 吸附甲醛能力的影响。

1.4 数据处理分析

1.4.1 去除率和吸附量

任一时间生物质炭对甲醛的去除率(E)及吸附量(q)计算公式如下:

$$E = (C_0 - C_t)/C_0 \quad (1)$$

$$q = [(C_0 - C_e)V]/m \quad (2)$$

式中: E 为去除率,%; q 为吸附量,mg/g; C_0 、 C_t 、 C_e 依次为甲醛溶液的初始浓度、 t 时刻浓度和平衡时的浓度,单位均为 mg/L; V 为甲醛溶液体积,L; m 为改性活性炭质量,g。

1.4.2 吸附等温线

Langmuir 以及 Freundlich 方程被广泛用于描述吸附等温线,通过对实验测试数据进行线性拟合,分析温度对甲醛吸附过程的影响,其表达式分别如下:

Freundlich 方程:

$$\ln q_e = (1/n)\ln c_e + \ln k \quad (3)$$

Langmuir 方程:

$$1/q_e = [1/(q_{\max} b)](1/c_e) + 1/q_{\max} \quad (4)$$

式中: q_e 为平衡吸附量,mg/g; c_e 为平衡后溶液中甲醛的剩余质量浓度,mg/L; q_{\max} 为吸附剂对甲醛的最大吸附量,mg/g; k 、 n 、 b 为常数。

1.4.3 吸附动力学

采用 Lagergren 的准一级以及准二级动力学模型,对实验数据进行曲线拟合。下面是相应的方程式:

Lagergren 准一级模型方程:

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (5)$$

Lagergren 准二级模型方程:

$$q_t = k_2 q_e^2 t / (1 + k_2 q_e t) \quad (6)$$

式中: k_1 、 k_2 为准一级、准二级速率常数,(mg·g)/min; t 为吸附时间,min; e 为 2.718; q_t 为 t 时的吸附量,mg/g; q_e 为平衡时的吸附量,mg/g。

1.4.4 颗粒内扩散

固体颗粒中的扩散现象被称为颗粒内扩散模型,以揭示颗粒内部扩散对吸附速率的主导作用。下面是该模型的数学表达式:

$$q_t = K_p t^{0.5} + C \quad (7)$$

式中, q_t 为 t 时刻吸附剂对吸附质的吸附量,mg/g; K_p 和 C 分别表示颗粒内扩散模型吸附速率常数和其参数,单位分别为 $g/(mg \cdot \min^{0.5})$ 、mg/g;通过绘制以 $t^{0.5}$ 为 x 轴, q 为 y 轴的图形,可以得到 K_p 和 C 的数值。

在绘制的曲线中,直线与原点相交表示颗粒内孔扩散是吸附过程中决定速率的唯一步骤。如果直线不与原点相交,则说明在吸附过程中还存在其他控制速率的因素,粒内孔扩散并非是唯一的影响因素。

2 结果与讨论

2.1 工业分析

表 1 玉米芯的工业分析

Tab.1 Industrial analysis of corncob

成分	水分	灰分	固定碳	挥发分
含量/%	4.90	11.00	28.40	53.80

2.2 表征结果分析

2.2.1 SEM 表征分析

图 1a、1b 分别为 AC 在放大倍数为 4 000 和 20 000 倍下的 SEM 图,从图中可以看出,未经活化的玉米芯活性炭表面比较粗糙,材料体相有丰富的孔结构,这可能是由于在高温下玉米芯材料中的挥发成分及高温热解物的排放使其材料内部孔隙结构发生变化所致^[19]。图 1c、1d 分别为 PEI-AC 在放大倍数为 10 000 和 12 000 倍下的 SEM 图,从图中明显看出改性后 PEI-AC 表面粗糙程度明显下降,可能由于聚乙烯亚胺的修饰,聚乙烯亚胺附着在炭材料表面,掩盖了玉米芯炭材

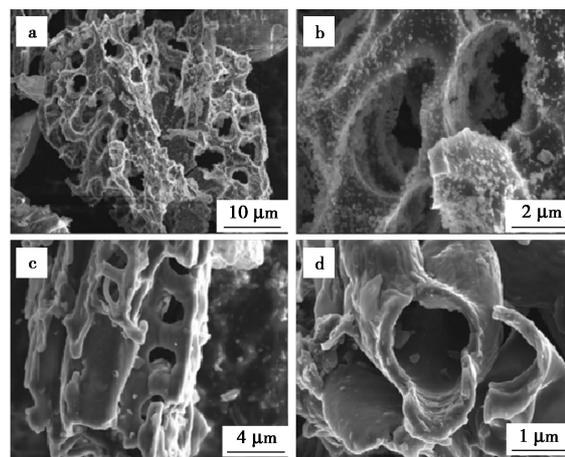


图 1 a、b 为 AC 不同放大倍数下的 SEM 图; c、d 为 PEI-AC 不同放大倍数下的 SEM 图
Fig.1 SEM photographs of AC (a,b) at different magnifications and PEI-AC (c,d) at different magnifications

料表面因高温炭化造成的结构缺陷,使其表面变得光滑均匀。改性后玉米芯活性炭表面负载的许多亲水性胺基和含氧活性炭表面上的基团使得改性后的玉米芯活性炭性能更好,且孔径变大,使其可以吸附更多的甲醛分子。

2.2.2 FT-IR 谱图分析

AC 与 PEI-AC 的红外光谱图如图 2 所示。与 AC 对比,改性活性炭 PEI-AC 的波峰变多,说明官能团数量发生变化。改性后 PEI-AC 在 $1\ 080\ \text{cm}^{-1}$ 处的特征峰可归属于的 C—O 收缩振动, $1\ 380\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 500\sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 和 $3\ 200\sim 3\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 处的特征峰可归属于活性炭表面 N—H 的伸缩振动^[21],可能是 PEI 使其表面的含氮官能团增加了,从而增强了对甲醛的吸附效率。

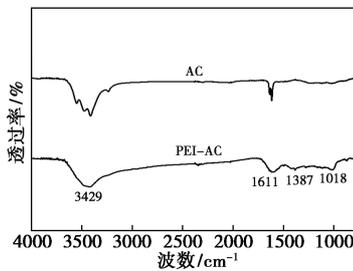


图 2 红外光谱图

Fig.2 Infrared spectrograms

2.2.3 XRD 表征分析

采用 XRD 来表征玉米芯基活性炭的结晶度。如图 3 所示,从 AC 和 PEI-AC 对应的 XRD 曲线中可以看出, 2θ 角在 26° 和 47° 左右都出现了两个较为宽的特征衍射峰,均为无定形炭。 $2\theta=26^\circ$ 衍射峰对应的是(002)晶面^[21],在 PEI-AC 曲线中,该峰形变的较为陡峭,这表明 PEI-AC 加入后高热解温度下有利于形成一些有序性较强的碳晶结构负载在活性炭的表面。在 $2\theta=46^\circ$ 有衍射峰,对应于石墨微晶的(100)晶面的衍射特征峰,说明 AC 和 PEI-AC 的石墨化程度相同而且没有明显的尖峰,说明二者的石墨化程度较低^[24]。

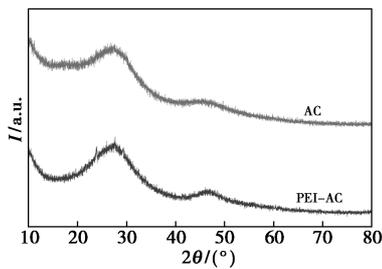


图 3 XRD 表征结果

Fig.3 XRD token results

2.3 甲醛静态吸附实验

2.3.1 浸渍比对吸附效果的影响

由图 4 可得,PEI-AC 对甲醛的去除率随着浸渍比的增加而增加,当浸渍比达到 0.2 : 1 时,120 min 内对甲醛去除率达到最大,为 89.2%,而 AC 对甲醛的去除率仅为 38.4%,表明 PEI-AC 比 AC 对甲醛的吸附能力更强,可能因为聚乙烯亚胺的修饰改性使得活性炭表面的官能团有所改变,使其吸附能力更强。若浸渍比提升到 0.25 : 1,则去除效率会呈现下滑趋势。这是因为当随着聚乙烯亚胺用量的增加,一方面是活化剂会导致活性炭内部略微侵蚀过度,从而导致玉米芯活性炭中的部分微孔变化为中控或者大孔,使的活性炭的微孔数量相对减少,从而对甲醛的吸附率变小。另一方面的原因是负载胺基基团过多,从而造成改性活性炭表面孔隙堵塞,导致改性活性炭的比表面积和孔隙容积变的很小,导致甲醛分子与活性炭接触不充分^[18],所以甲醛的吸附率也会下降。

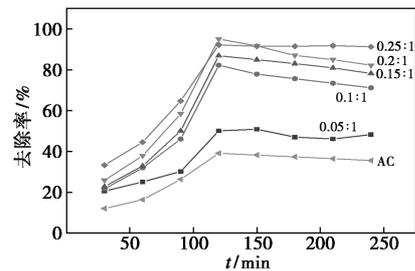


图 4 浸渍比对活性炭吸附的影响

Fig.4 Effect of impregnation ratio on adsorption of activated carbon

2.3.2 甲醛初始浓度对吸附的影响

图 5 为 0.3 g PEI-AC 对 20 mL 不同浓度(10、20、30、40、50 mol/L)的甲醛溶液的甲醛吸附实验。

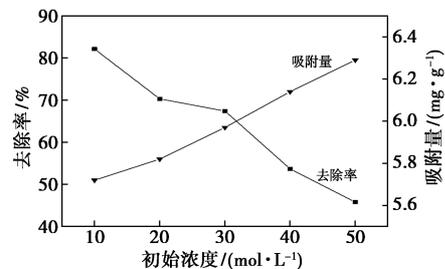


图 5 初始浓度对活性炭吸附的影响

Fig.5 Effect of initial concentration on adsorption of activated carbon

由图 5 可以看出,PEI-AC 对甲醛的去除率随

着甲醛初始浓度的增加而不断下降,而单位吸附量不断增加。当初始浓度为 30 mol/L 时,去除率为 67.4%,再随着甲醛溶液初始浓度的增加,PEI-AC 对甲醛的去除率急速下降。因此后续实验中选择初始甲醛浓度为 30 mol/L。这可能是由于甲醛溶液初始浓度升高时,单位体积溶液中所含甲醛分子量显著增加,有利于活性炭对甲醛的吸附,所以吸附量也随之增加。但改性活性炭表面和孔道内的活性吸附位点有限,因此其对溶液中甲醛的吸附容量也是有限的,改性活性炭对甲醛的吸附随溶液初始浓度的增加而渐趋于饱和,导致去除率逐渐降低。因在吸附过程中改性活性炭并未达到饱和吸附量,其表面的活性吸附位点未被全部占据^[25,26],所以其对甲醛的吸附量会随着溶液初始浓度的增加而增加。

2.3.3 炭投加量对吸附效果的影响

图 6 用数据展示了不同 PEI-AC 投加量影响其对甲醛吸附作用,以 30 mol/L 的甲醛为初始浓度,在本次实验中,PEI-AC 分别使用了 0.1、0.2、0.3、0.4 和 0.5 g。

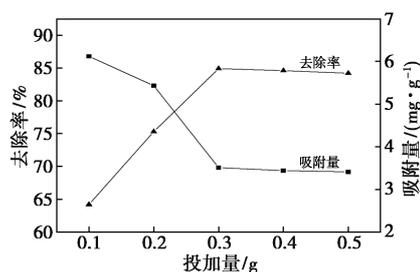


图 6 不同投加量对活性炭吸附的影响

Fig.6 Effect of different dosage on adsorption of activated carbon

由图 6 可知,PEI-AC 投加量对甲醛去除率具有显著影响。根据测试数据展示,采用 0.3 g 的 PEI-AC 时,去除效果高达 84.9%,吸附量达到 3.51 mg/g,随着投加量增加,去除率逐渐趋于稳定状态。因此,在该实验中选择 0.3 g 作为最适投加量。可能由于活性炭的投加量较少时,没有足够的接触面,溶液中甲醛分子无法与活性炭更好的接触,从而降低了去除效果;当投加量增加时,接触面随着增加,能够提供更多有效吸附位点,使得去除效果得到显著提升^[25]。

2.3.4 pH 对吸附的影响

图 7 为 0.3 g PEI-AC 在 pH 值 3~11 内对 20 mL 初始浓度为 30 mol/L 的甲醛溶液的吸附实验。

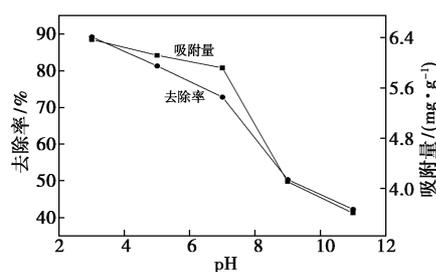


图 7 pH 对甲醛吸附的影响

Fig.7 Effect of pH on formaldehyde adsorption

根据图 7 的数据,随着溶液碱度的升高,PEI-AC 对甲醛的吸附能力呈现递减趋势,在 pH 值介于 3~5 之间时,其吸附效果达到最佳。pH 对 PEI-AC 吸附甲醛的过程影响较大,在 pH 3 时,甲醛的去除率为 89.2%,吸附量达到 6.37 mg/g。在变化范围为 pH 5~9 的情况下,去除率减为 50.3%,增大至 pH 11 时,去除率只有 42.2%,吸附量仅有 3.61 mg/g,甲醛在碱性条件下可能失去平衡,导致溶液中离子态的甲醛增加。由于离子态甲醛具有高极性,因此它的吸附量会减少,这个观察结果与刘玲等^[26]的研究结果一致。因此,为了保持去除率不受影响,本研究选择 pH 3。

2.3.5 吸附时间对吸附甲醛的影响

图 8 为 0.3 g PEI-AC 在吸附时间 30~300 min 内对 20 mL 初始浓度为 30 mol/L 的甲醛溶液的吸附实验。

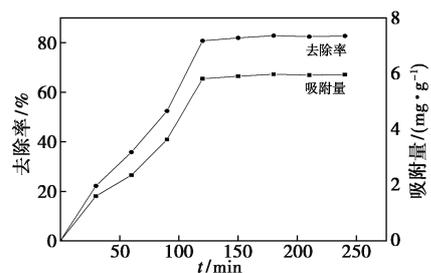


图 8 吸附时间对活性炭吸附的影响

Fig.8 Effect of adsorption time on adsorption of activated carbon

根据图 8 所示的数据,随着吸附时间的延长,整体吸附速率出现先升高后动态稳定的趋势。最初的阶段,吸附速率有了明显的提升,这是由于起初阶段的溶液中甲醛的传播与吸附剂表面之间存在明显的浓度差异,因此产生了较大的吸附速率,这使得反应速率较高。然而,随着吸附时间延长至 120 min,吸附速率逐渐减缓,去除率为 80.2%。随着吸附时间的延长,去除率变得逐渐趋于稳定,原因在于随着时间的推移,吸附过程逐

渐减少了浓度差,从而减缓了吸附速率,最终达到了一个相对平衡的吸附状态^[27,28]。

2.4 吸附动力学分析

对实验数据进行了非线性拟合,研究了吸附结果的准一级和准二级动力学模型,图 9 展示了拟合的结果以及相关模型参数,详细数值参考表 2。通过动力学分析,PEI-AC 的准二级动力学方程的拟合系数较准一级动力学方程更大,说明 PEI-AC 吸附甲醛的过程较为符合准二级动力学方程,可以判断该吸附过程为化学吸附。由方程计算的最大吸附量与最大实际吸附量更加接近。

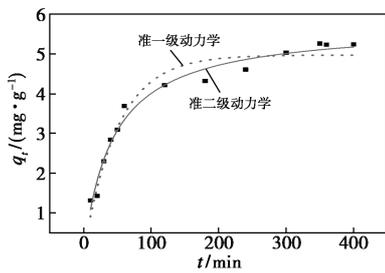


图 9 Lagergren 准一级和准二级拟合图

Fig.9 Lagergren quasi primary and secondary fitting graphs

表 2 动力学模型特征参数

Tab.2 Characteristic parameters of dynamic model

类别	动力学参数	公式	R ²
准一级反应动力学	K ₁ = 0.019	q _t = 4.97(1 - e ^{-0.019t})	0.956
准二级反应动力学	K ₂ = 0.004 0 q _e = 5.73 mg/g	q _t = 0.131 3t / (1 + 0.023t)	0.976

颗粒扩散拟合曲线如图 10 所示,相关参数如表 3。根据表 3 中的参数,可以利用颗粒内扩散模型对吸附数据进行拟合,基于该模型,吸附过程可分解为外部传质,还有颗粒内扩散以及动态平衡这 3 个过程。首先,将甲醛分子吸附在 PEI-AC 表面(第一阶段),吸附量迅速增加,然后甲醛分子从表面扩散到孔隙中(第二阶段),最后,甲醛吸附达到平衡(第三阶段)。通过对比可知, K_{p1} > K_{p2} > K_{p3},这说明第一阶段的吸附速率是最快的,其次是第二阶段,这可能是因为甲醛分子由 PEI-AC 颗粒外部扩散到内部的扩散阻力逐渐增大导致。根据 3 段线的拟合结果,可以得出结论:曲线并未通过坐标原点,而且 C ≠ 0,这表明颗粒内部扩散速率并非唯一决定 PEI-AC 对甲醛吸附的因素。实际上,吸附过程同时受到膜扩散和颗粒内部扩散的影响。

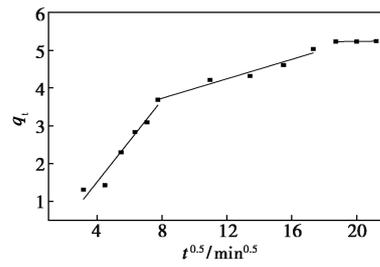


图 10 颗粒内扩散方程拟合

Fig.10 Particle internal diffusion equation fitting

表 3 PEI-AC 颗粒内扩散模型参数

Tab.3 Intraparticle diffusion parameters of PEI-AC

阶段	一	二	三
C	-0.654	2.66	5.15
K _p	0.542	0.128	0.003 9
R ²	0.940	0.945	0.734

2.5 吸附等温线拟合分析

在温度为 25 °C 的条件下,研究了 PEI-AC 材料对甲醛吸附的作用,并且采用了 Langmuir 以及 Freundlich 等温吸附方程进行拟合分析,见图 11 和 12,而拟合参数的具体数值可参考表 4。由表 4 可知,PEI-AC 的 Langmuir 方程拟合 R² 高于 Freundlich 方程拟合的 R²,说明 PEI-AC 对甲醛的吸附平衡数据均符合 Langmuir 模型,为单分子层吸附。依据实验结果所呈现的数据表明,实际值为 5.79 mg/g,几乎与理论最大吸附量 5.91 mg/g 相近。特征参数 1 < n < 10 的 Freundlich 常数表明 PEI-AC 对甲醛吸附有积极作用。

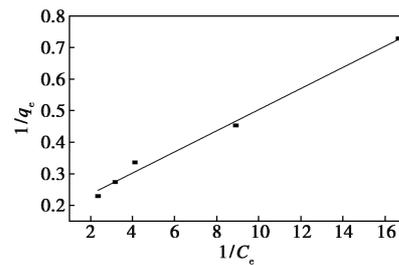


图 11 Langmuir 等温线拟合方程

Fig.11 Langmuir isotherm fitting equation

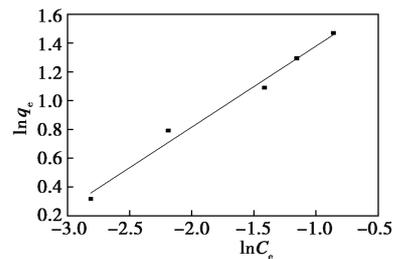


图 12 Freundlich 等温线拟合方程

Fig.12 Freundlich isotherm fitting equation

表 4 吸附等温线模型线性拟合参数
Tab.4 Linear fitting parameters of adsorption isotherm model

等温线	常数	公式	R^2
Langmuir 方程	$q_{\max}(\text{mg/g})=5.91; b=5.07$	$1/q_e = [1/(q_{\max}b)](1/c_e) + 1/q_{\max}$	0.988
Freundlich 方程	$n=1.77, k=6.95$	$\ln q_e = (1/n)\ln c_e + \ln k$	0.981

3 结论

本实验 PEI 对玉米芯炭进行改性并应用于废水中甲醛的吸附。经过详细研究,改性活性炭在针对甲醛的吸附特性方面表现良好。随着改性剂 PEI 的增加,PEI-AC 对甲醛吸附率不断增加,当浸渍比为 0.2:1 时,去除率达到最大,增加到 0.25:1 时,去除率会下降。在最适条件下,即 pH 3, PEI-AC 投加量为 0.3 g,初始浓度为 10 mg/L,吸附时间为 2 h,可观察到 PEI-AC 的吸附效果是普通活性炭的 2.11 倍。FT-IR 分析显示,经 PEI 改性后,活性炭表面的官能团数量和种类增加,XRD 显示 PEI 改变了活性炭的晶型,且 C 原子的排列顺序比原来未改性的活性炭好,也能从侧面说其内部孔隙结构发生了变化。SEM 表征结果显示,PEI-AC 的粗糙度均明显下降。以废弃玉米芯为原料,制备的聚乙烯亚胺改性的活性炭,处理方法操作简单,适用于甲醛废水的处理,同时还能提高废玉米芯的综合利用率,减少环境污染。

参考文献:

- [1]李世杰,黄慧娟,尚莉莉,等.活性炭净化室内甲醛的研究进展[J].材料导报,2021,35(S2):75-80.
- [2]赵佳琪,纪军.降低工业废水中甲醛含量的两种方法讨论[J].清洗世界,2022,38(7):43-45.
- [3]刘宝成,赵晓明.活性炭吸附去除室内甲醛的研究进展[J].成都纺织高等专科学校学报,2017,34(1):224-229.
- [4]龚斌斌.好氧活性污泥法处理水污染应用技术研究[J].清洗世界,2022,38(8):100-102.
- [5]陈龙辉.探究芬顿试剂对偏光片生产加工行业聚乙烯醇废水处理效果的试验研究[J].广东化工,2021,48(3):91-93.
- [6]王玉军,贺华阳,骆广生,等.光催化氧化法处理甲醛废水的研究[J].化工环保,2003,23(6):311-313.
- [7]樊佳.浅谈吸附剂在废水处理中的应用[J].山西化工,2021,41(3):156-158.
- [8]韦琴,周帆.板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 的吸附行为[J].化学试剂,2022,44(6):841-845.
- [9]张妍杰,王欢,蔡玉福,等.改性柚子皮生物炭吸附亚甲基蓝性能研究[J].化学试剂,2022,44(6):822-827.
- [10]迪力夏提·阿不力孜.制备条件对针铁矿-生物炭复合物汞吸附性能的影响[J].化学试剂,2021,43(5):590-597.
- [11]国显勇,吴英海,陈锋,等.玉米芯释碳影响因素及其在低碳氮比污水处理中的应用进展[J/OL].大连海洋大学学报:1-12[2022-09-27].
- [12]汪友明.玉米芯碳基吸附材料的水热制备及其吸附性能与机理研究[D].合肥:安徽农业大学,2018.
- [13]HAN X W, GUO Y, LIU X H, et al. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass into hydrocarbons a mini review[J]. *Catal. Today*, 2018, 319: 2-13.
- [14]SUN G P, WAN J F, YI C, et al. Enhanced removal of nitrate and refractory organic pollutants from bio-treated coking wastewater using corncobs as carbon sources and biofilm carriers[J]. *Chemosphere*, 2019, 237: 124-130.
- [15]徐荣声,孟泽,冯倩,等.氯化锌-水蒸气协同活化玉米芯制活性炭的研究[J/OL].无机盐工业:1-13[2023-08-03].DOI:10.19964/j.issn.1006-4990.2023-0220.
- [16]袁渊.炭化玉米芯吸附材料的研制及在室内甲醛中的吸附应用[D].上海:上海海洋大学,2017.
- [17]ZHANG D D, ZHANG M X, DING F, et al. Efficient removal of formaldehyde by polyethyleneimine modified activated carbon in a fixed bed[J]. *Environ. Sci. Pollut. R*, 2020, 27(15): 18 109-18 116.
- [18]高红亮.聚乙烯亚胺改性吸附剂去除镉离子的研究[D].南宁:广西大学,2019.
- [19]张继国.聚乙烯亚胺-木质素基吸附材料制备与性能研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2014.
- [20]梁兴唐,李凤枝,钟书明,等.聚乙烯亚胺原位改性多孔灯芯草高效吸附废水中的 Cr(VI)[J].化工学报,2021,72(6):3 380-3 389.
- [21]ABRAHAM W L, DEMIRCI S, WYPYSKI M S, et al. Biofilm inhibition and bacterial eradication by C-dots derived from polyethyleneimine-citric acid[J]. *Colloid. Surface. B*, 2022, 217: 112-120.
- [22]中国煤炭工业协会.煤中全水分的测定方法:GB/T 211—2017[S].北京:中国国家标准化管理委员会,2017.
- [23]中国煤炭工业协会.煤的工业分析方法:GB/T 212—2008[S].北京:中国国家标准化管理委员会,2008.
- [24]潘焯,庄晓伟,章江丽,等.竹活性炭碘吸附值对甲醛吸附性能影响的研究[J].生物质化学工程,2010,44(4):24-33.
- [25]HONG G B, HU S C, SHIUE A, et al. Organic acid modified activated carbon filter media for removal of isopropanol in the cleanroom[J]. *Optik*, 2022, 255: 168-173.
- [26]刘玲,谢绍尧.改性膨润土吸附废水溶液中甲醛的性能研究[J].工业水处理,2012,32(9):35-37,55.
- [27]杨明,陈薇,杨秀权.废弃果皮对甲醛的吸附性能研究[J].武汉轻工大学学报,2021,40(4):93-95.
- [28]CARDENAS C, FARRUSSENG D, DANIEL C, et al. Modeling of equilibrium water vapor adsorption isotherms on activated carbon, alumina and hopcalite[J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2022, 561: 113-120.

光催化 TiO₂-NaOH 预处理稻秆协同酶法制备葡萄糖研究

潘亮, 毕艳红, 迟永洲, 罗思, 袁向阳, 王朝宇*, 赵祥杰
(淮阴工学院 生命科学与食品工程学院, 江苏 淮安 223003)

摘要:采用光催化耦合 TiO₂-NaOH 预处理稻秆的方法, 以有效提高其酶解糖化的效果。研究了光催化剂 TiO₂ 粒径、料液比、TiO₂ 质量浓度和光催化时间对稻秆预处理的影响。采用三因素三水平的 Box-Behnken 试验设计, 利用响应面法对稻秆预处理工艺参数进行研究, 以酶解预处理稻秆的葡萄糖质量浓度为响应值进行响应面分析, 得到最优光催化条件: 料液比为 1:41 (g/mL), P25 型 TiO₂ 质量浓度为 0.7 g/L, 光催化时间为 54 min。在此条件下, 酶解后葡萄糖质量浓度最高达 (19.02±0.16) mg/mL。所建立的 TiO₂-NaOH 预处理方法, 为木质纤维素的高效预处理提供了借鉴, 对推动生物质能源的高效利用提供了理论依据。

关键词:光催化; TiO₂ 光催化剂; 木质纤维素; 酶解; 生物质能源

中图分类号: Q556 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0077-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0520

Study on Photocatalytic TiO₂-NaOH Pretreatment of Rice Straw for Synergistic Enzymatic Preparation of Glucose PAN Liang, BI Yan-hong, CHI Yong-zhou, LUO Si, YUAN Xiang-yang, WANG Zhao-yu*, ZHAO Xiang-jie (School of Life Science and Food Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an 223003, China)

Abstract: A photocatalytic coupled TiO₂-NaOH pretreatment method was used to improve the enzymatic hydrolysis of rice stalks. The effects of TiO₂ particle size, solid-liquid ratio, TiO₂ mass concentration and photocatalytic time on rice stalks were studied. A three-factor and three-level Box-Behnken experimental scheme was adopted to explore the parameters of straw pretreatment process by response surface method. The optimal photocatalytic conditions were obtained by response surface analysis with glucose mass concentration as the response value; solid-liquid ratio was 1:41 (g/mL), P25 TiO₂ mass concentration was 0.7 g/L, and photocatalytic time was 54 min. The highest glucose mass concentration was (19.02±0.16) mg/mL after enzymolysis. The TiO₂ photocatalytic combined with NaOH pretreatment method established in this study provides a reference for the efficient pretreatment of lignocellulose and a theoretical basis for promoting the utilization of biomass energy.

Key words: photocatalysis; TiO₂ photocatalyst; lignocellulose; enzymolysis; biomass energy

生物质能源是一种以生物质作为载体, 以化学能量形式存储的可再生、无污染及绿色环保的碳能源, 目前人们对其利用率还不到 3%^[1]。稻秆是丰富的农业生物质资源之一, 但在其精炼过程中木质纤维素的预处理是主要难点, 现有的预处理方法依然存在着能耗高、副产物产生及处理效果不好控制等难以克服的缺陷^[2]。因此, 尽管其资源潜力巨大, 但商业成本始终居高不下, 仍未具备大规模投产的技术与条件, 造成了资源的严重浪费。

木质纤维素是一种可再生的生物质能源, 主要是由纤维素、半纤维素和木质素组成, 三者之间通过共价键和氢键紧密结合^[3]。纤维素是由吡喃葡萄糖基单体经 β -1,4 糖苷键连接成的线性聚合物, 其聚合度可达 10 000 以上, 是木质纤维素的重要组成部分^[4]。由于纤维素结构中分子间氢键以及疏水的顶部和底部表面使薄片之间的范

德华力相互作用, 形成紧密有序的纤维素链, 导致了纤维素在水和大多数溶剂中的溶解度极低, 成为纤维素难降解的主要原因^[5]。因此, 寻找一种温和高效而又经济环保的预处理方法以解决木质纤维素的高效利用问题一直是该领域的研究热点。

收稿日期: 2023-08-01; 网络首发日期: 2023-10-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21676114); 江苏省研究生实践创新计划项目 (SJCX23-1853); 江苏省市场监督管理局科技项目 (KJ21125104); 淮阴工学院 2023 大学生创新创业训练计划项目 (202311049477YJ)。

作者简介: 潘亮 (1999-), 男, 江苏宿迁人, 硕士生, 主要研究方向为生物化工。

通讯作者: 王朝宇, E-mail: biowzy@126.com。

引用本文: 潘亮, 毕艳红, 迟永洲, 等. 光催化 TiO₂-NaOH 预处理稻秆协同酶法制备葡萄糖研究 [J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 77-83.

碱性溶剂(如 NaOH、KOH 和氨水等)处理法被证明是目前较为有效的预处理手段之一,大部分木质素在碱处理过程中会被脱除,而纤维素和半纤维素则会发生溶胀,使得三者紧密连接的化学键断裂,从而达到破坏他们结构的目的^[6,7]。李琳等^[8]采用 KOH 及 Ca(OH)₂ 两种碱分别对玉米秸秆进行预处理,发现在相同的碱用量下, KOH 的预处理效果明显优于 Ca(OH)₂。高凤芹等^[9]采用了稀碱法对杂交狼尾草进行预处理研究,结果表明温度是影响预处理效果最大的因素,其次是 NaOH 质量浓度。

近年来,以能发生光化学反应的半导体材料为催化剂的光催化过程在木质纤维素预处理方面的研究逐渐引起人们的兴趣^[10]。如 Niu 等^[11]曾采用光催化辅助 1.5% NaOH 预处理稻秆,作用 1 h 后其木质素含量从 18.5% 降低至 9.0%,而纤维素含量则从 37.5% 提升至 71.5%。Alvarado-Morales 等^[12]采用光催化预处理小麦秸秆 3 h 后,其可生物降解性提高了 37.12%,说明光催化预处理可提高对木质素的破坏程度,但该过程所用的处理时间过长。由此可见,光催化辅助预处理秸秆可有效破坏木质纤维素的复杂结构,提高纤维素的可及性,具有较好的预处理效果^[13]。TiO₂ 被认为是最具应用价值的光催化材料之一,具有良好稳定性、无毒、不会造成二次污染以及高催化活性等优点^[14]。TiO₂ 通常有锐钛矿型(Anatase, Ant)、金红石型(Rutile, Rt)及板钛矿型(Brookite, Brk)3 种晶型,其中板钛矿型热稳定差,且光催化的效果较差,在光催化的研究中很少被使用,锐钛矿型比金红石型有更好的光催化活性,但其热稳定性不如金红石型^[15]。目前用于光催化剂研究的主要是锐钛矿型和金红石型的混合体系^[16]。

综上所述,本研究以 TiO₂ 为光催化剂辅助 NaOH 对稻秆进行预处理,以酶解稻秆所得葡萄糖质量浓度作为评价指标,通过响应面法对光催化-NaOH 预处理工艺进行优化,构建基于光催化-NaOH 高效预处理稻秆的纤维素酶解体系,以期为木质纤维素的高效利用提供借鉴。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

254 nm 型紫外线灯(上海季光特种照明电器厂);752N 型紫外-可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司);DHG-9076A 型电热恒温鼓风

干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(河南予华仪器有限公司);FZ102 型万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);FZ102 型微型植物试样粉碎机(北京市永光明医疗仪器有限公司);KQ100-VDE 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);GTCS-2016 型水浴恒温振荡器(金坛市良友仪器有限公司);ZHWHY-1102C 型恒温培养振荡器(上海智诚分析仪器制造有限公司)。

稻秆(江苏宿迁沭阳县);TiO₂(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);纤维素酶(青岛蔚蓝生物股份有限公司);NaOH、3,5-二硝基水杨酸、无水葡萄糖、柠檬酸(国药集团化学试剂有限公司);柠檬酸钠(南京化学试剂有限公司);DNS 试剂(Ghose 法配制);所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 稻秆的前处理

稻秆于 70 °C 条件下干燥至恒重,经粉碎并过 30 目和 50 目筛,取中间部分备用。

1.2.2 单因素实验设计

1.2.2.1 TiO₂ 粒径对预处理效果的影响

分别配制 0.4 g/L 锐钛矿型(5~10、10~25、40、60 nm)和 P25 型 TiO₂ 溶液,超声分散 10 min 后以 1:20(g/mL)的料液比加入绝干稻秆超声 30 min,经光催化(254 nm)30 min 后于 50 °C 下烘干,之后加入 4%的 NaOH 溶液在 50 °C 下处理 1 h 后干燥。测定稻秆预处理前后质量变化,然后以 2%的固体含量添加酶活为 20 FPU/g 的纤维素酶,在 50 °C 及 120 r/min 条件进行 48 h 的摇床反应,测定酶解后葡萄糖的质量浓度。

1.2.2.2 料液比对预处理效果的影响

配制 0.4 g/L 的 P25 型 TiO₂ 溶液,超声分散 10 min 后,分别按照 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60(g/mL)的料液比加入绝干稻秆超声 30 min,经光催化(254 nm)30 min 后于 50 °C 下烘干,加入 4%的 NaOH 溶液在 50 °C 下处理 1 h 后干燥。采用 1.2.2.1 相同的酶解条件对其进行处理,测定酶解后葡萄糖的质量浓度。

1.2.2.3 TiO₂ 质量浓度对预处理效果的影响

分别配制 0、0.4、0.8、1.2、1.6 g/L 的 P25 型 TiO₂ 溶液,超声分散 10 min 后,按照 1:40(g/mL)的料液比加入绝干稻秆超声 30 min,经光催化(254 nm)30 min 后于 50 °C 下烘干,加入 4%的 NaOH 溶液在 50 °C 下处理 1 h 后干燥。采用 1.2.2.1

相同的酶解条件对其进行处理,测定酶解后葡萄糖的质量浓度。

1.2.2.4 光催化时间对预处理效果的影响

配制 0.8 g/L 的 P25 型 TiO₂ 溶液,超声分散 10 min 后,按照 1:40 (g/mL) 的料液比加入绝干稻秆超声 30 min,分别经光催化(254 nm) 0、15、30、45、60、75 min 后于 50 °C 下烘干,之后加入 4% 的 NaOH 溶液在 50 °C 下处理 1 h 后干燥。采用 1.2.2.1 相同的酶解条件对其进行处理,测定酶解后葡萄糖的质量浓度。

1.2.3 标准曲线的制定

本实验采用詹梦涛等^[17]的葡萄糖标准曲线绘制方法,稍加改变。取 9 支 25 mL 的刻度试管,分别加入 0~0.4 mL (间隔为 0.05 mL) 质量浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖标准液和 0.1~0.5 mL (间隔为 0.05 mL) 的去离子水,振荡后加入 0.5 mL 的 DNS 试剂于沸水中加热 5 min,冷却后定容至 5 mL 混匀于 526 nm 下测定溶液吸光度,并以吸光度值为纵坐标,葡萄糖质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。

1.2.4 稻秆葡萄糖质量浓度的测定

取光催化振荡反应 48 h 后的上清液于 10 000 r/min 下离心 10 min 后稀释 50 倍。取 0.4 mL 稀释液、0.1 mL 的去离子水和 0.5 mL 的 DNS 试剂加入到比色管中,于沸水浴中加热 5 min 后立刻冷却,然后加入 4 mL 的去离子水,振荡均匀后于 526 nm 下测定吸光度值,计算其质量浓度。

1.2.5 数据处理与分析

所有实验进行 3 次重复,在经过上述实验后,选择料液比、TiO₂ 质量浓度以及光催化时间 3 个因素,采用 Design-Expert 8.0 中的 Box-Behnken 实验模型来进行三因素三水平实验对预处理工艺参数进行优化。

2 结果与讨论

2.1 TiO₂ 粒径对预处理效果的影响

TiO₂ 的粒径大小是影响预处理效果的关键因素之一,理论上当粒径较小时,TiO₂ 具有较大的比表面积,光催化效果更好,但过小的粒径会使催化剂的团聚效应显著增加,使光催化效果更差。本文采用不同粒径的锐钛矿型和 P25 型 TiO₂ 对稻秆进行预处理,结果如图 1 所示。P25 型 TiO₂ 显示出最佳的催化性能,葡萄糖质量浓度达 (13.7±0.13) mg/mL。这是由于 P25 型 TiO₂ 是

锐钛矿型和金红石型的混合晶型,两种结构的混杂增大了 TiO₂ 晶格内的缺陷密度,进而增大了载流子的浓度,使电子、空穴数量增加,最终导致其具有更强的捕获能力,光催化效果较其他更好^[18]。

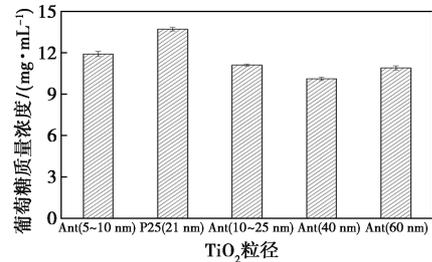


图 1 TiO₂ 粒径对光催化辅助 NaOH 预处理稻秆的影响

Fig.1 Effect of TiO₂ particle size on photocatalytic assisted NaOH pretreatment of rice straw

2.2 料液比对光催化预处理稻秆酶解效果的影响

由图 2 可知,料液比为 1:20~1:40 (g/mL) 范围内葡萄糖质量浓度呈现上升趋势,这是因为增加了稻秆和紫外光的接触面积,料液比达到 1:40 (g/mL) 时葡萄糖质量浓度达到最高,为 (18.60±0.15) mg/mL; 当料液比逐渐提高,葡萄糖质量浓度有了缓缓下降的趋势,这是由于光催化搅拌过程中,稻秆和 TiO₂ 之间的有效接触面积变小,导致二者可接触活性位点减少,致使光催化效果下降^[19]。随着反应体系中料液比的增加,葡萄糖质量浓度随着料液比的增大呈现先上升后下降的趋势,但整体变化幅度不大,考虑到增加料液比会增加后续催化时间与能耗,故选择料液比为 1:40 (g/mL)。

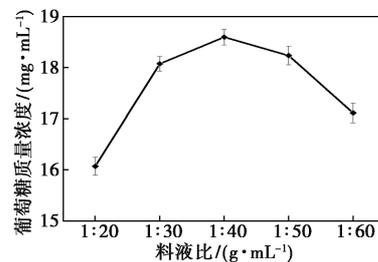


图 2 料液比对光催化-NaOH 预处理稻秆的影响

Fig.2 Effect of solid-liquid ratio on photocatalytic-NaOH pretreatment of rice straw

2.3 TiO₂ 质量浓度对光催化预处理稻秆酶解效果的影响

TiO₂ 质量浓度是影响光催化预处理效果的重要因素之一,稻秆经不同质量浓度的 P25 型

TiO₂ 预处理后化学成分的变化各不相同。由图 3 可知,随着 P25 型 TiO₂ 质量浓度的增加,葡萄糖质量浓度呈现先升高后降低的趋势,其中当 P25 型 TiO₂ 质量浓度为 0.8 g/L 时,葡萄糖质量浓度达到最大(18.32±0.20)mg/mL,而未使用 P25 型 TiO₂ 预处理的稻秆酶解出葡萄糖质量浓度为(13.83±0.19)mg/mL,其中葡萄糖质量浓度提升了 32.47%。这是由于 TiO₂ 在紫外线照射下,光催化体系中羟基自由基浓度随 TiO₂ 质量浓度的增加而增大,加速了光催化反应进行;但随着催化剂质量浓度持续升高,TiO₂ 粒子之间的碰撞增加了光生“电子-空穴”的复合几率,引起 TiO₂ 颗粒聚集,导致稻秆同 TiO₂ 之间有效作用表面积减小,导致可接触活性位点的减少与光催化效果降低,最终导致葡萄糖质量浓度的降低^[20]。

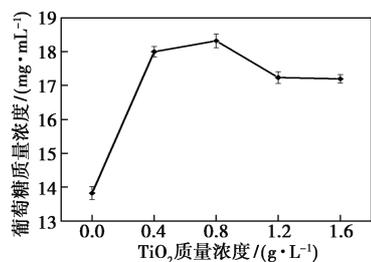


图 3 TiO₂ 质量浓度对光催化-NaOH 预处理稻秆的影响

Fig.3 Effect of TiO₂ mass concentration on photocatalytic-NaOH pretreatment of rice straw

2.4 光催化时间对预处理稻秆酶解效果的影响

光催化时间对预处理的影响也较大。由图 4 可知,紫外光光催化 0~45 min,葡萄糖质量浓度上升迅速,在 45 min 时达到最大值(18.84±0.14)mg/mL,比未进行光催化处理的葡萄糖质量浓度提升了 35.44%;在 45~60 min 范围内葡萄糖质量浓度呈下降趋势,而当处理时间从 60 min 逐渐增加至 75 min 时,葡萄糖质量浓度基本没有明显变

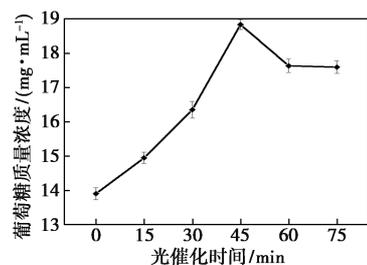


图 4 光催化时间对光催化-NaOH 预处理稻秆的影响

Fig.4 Effect of photocatalytic time on photocatalytic-NaOH pretreatment of rice straw

化。孙伟等^[21]以 Cu₂O/TiO₂ 为催化剂在太阳光下降解罗丹明 B,探究反应时间对材料光催化性能的影响时也发现,光催化效率会随着光照时间的增加趋于平缓。由此可见,单一的提高光催化的时间并不能无限增加葡萄糖质量浓度,这可能是因为 TiO₂ 长时间占据了预处理材料中过多的电子空穴,达到了饱和状态,最终导致葡萄糖质量浓度变化不大,综合考虑光催化时间选择 45 min 为宜^[22]。

2.5 稻秆预处理的响应面优化实验

根据单因素试验结果,采用 Box-Behnken 方法设计响应面试验。围绕 A(料液比)、B(TiO₂ 质量浓度)和 C(光催化时间)3 个因素,以葡萄糖质量浓度为响应值,采用三因素三水平的响应面分析方法,确定最佳预处理工艺参数,试验方案如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素水平表

Tab.1 Factors and levels of response surface analysis experiment

因素	水平		
	-1	0	1
A:料液比/(g·mL ⁻¹)	1:20	1:40	1:60
B:TiO ₂ 质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.4	0.8	1.2
C:光催化时间/min	30	45	60

表 2 回归模型方差分析结果^注

Tab.2 Regression model variance analysis results

变量	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	16.93	9	1.88	120.41	<0.000 1	***
A	0.204 5	1	0.204 5	13.09	0.008 5	**
B	0.108 4	1	0.108 4	6.94	0.033 7	*
C	8.22	1	8.22	526.36	<0.000 1	***
AB	0.071 0	1	0.071 0	4.55	0.070 4	
AC	0.160 0	1	0.160 0	10.24	0.015 1	**
BC	0.047 5	1	0.047 5	3.04	0.124 6	
A ²	2.17	1	2.17	138.98	<0.000 1	***
B ²	0.533 7	1	0.533 7	34.17	0.000 6	**
C ²	4.71	1	4.71	301.62	<0.000 1	***
残差	0.109 3	7	0.015 6			
失拟项	0.090 4	3	0.030 1	6.36	0.052 9	
误差	0.018 9	4	0.004 7			
总和	17.04	16				

模型确定系数:0.993 6 模型的调整确定系数:0.985 3

注:***,差异极显著($P < 0.001$);**,差异高度显著($P < 0.01$);*,差异显著($P < 0.05$)。

采用葡萄糖质量浓度作为反应值,回归拟合得到了各个因素对反应的影响,回归方程如下:
 $Y = 18.88 + 0.159 9A - 0.116 4B + 1.01 C - 0.133 2AB - 0.200 0AC + 0.109 0BC - 0.718 0A^2 - 0.356 0B^2 - 1.06C^2$ 。模型的 F 值为 120.41,显著性分析得 $P < 0.000 1 < 0.001$,结果表明,本文建立的回归模型能够较好地预测葡萄糖的质量浓度。失拟项 F 值为 6.36, $P = 0.052 9 > 0.05$,表明该回归公式对实验的拟合效果较好,未知因子对实验的结果影响较小,表明残余误差是随机误差造成的。模型显示,模型确定系数(0.993 6)以及模型的调整确定系数(0.985 3)都接近 1,这表明测定值和预测值之间有非常高的拟合度。

2.6 响应面分析

根据回归方程,考察响应面曲面图的形状,分析料液比、TiO₂ 质量浓度、光催化时间对酶解稻秆葡萄糖质量浓度的影响。响应面曲面图可以很好的反应自变量之间的相互作用。通过观察响应曲面图的坡度陡峭程度,确定两者对响应值的影响程度,响应面曲面图越陡峭说明两者的交互作用越明显。料液比(A)、TiO₂ 质量浓度(B)、光催化时间(C)对葡萄糖质量浓度的影响见图 5^[23]。

由响应曲面图可知,TiO₂ 质量浓度、光催化时间对酶解稻秆葡萄糖质量浓度的影响最为显著,表现为曲线较陡,而料液比则不明显,曲线较为平缓^[24]。

2.7 验证试验及分析
 根据响应面的优化结果,得出了光催化前处理过程中的最佳工艺条件:料液比 1 : 40.905 (g/mL)、TiO₂ 质量浓度为 0.697 g/L,光催化处理时间 53.736 min。考虑到实验条件的可操作性,将工艺参数修正为料液比为 1 : 41 (g/mL)、TiO₂ 质量浓度为 0.70 g/L、光催化处理时间为 54 min。在此最优催化工艺条件下进行验证实验,平行实验 3 次,计算得稻秆酶解出葡萄糖平均质量浓度为 (19.02±0.16) mg/mL,预测值葡萄糖的质量浓度 19.11 mg/mL,实际测定值比理论预测值低 0.08 mg/mL,相对误差为 0.44%,表明本实验设计工艺条件准确可靠,进一步验证了回归模型的合理性。

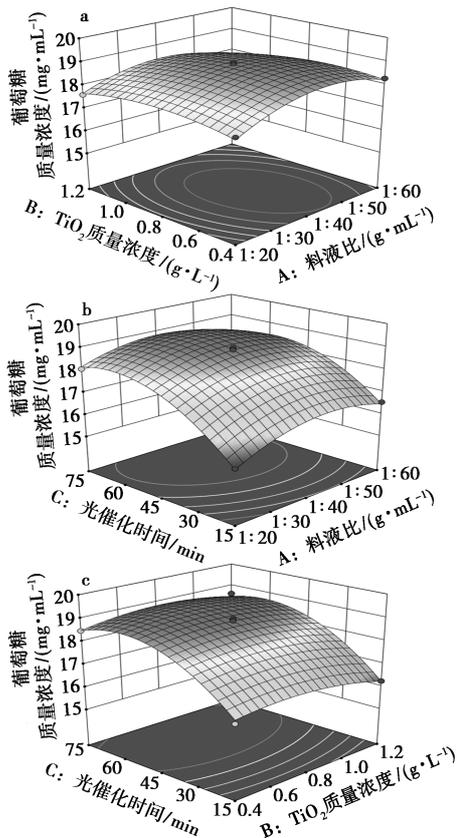
2.8 不同处理方法效果对比

Sabeeh 等^[25]采用 TiO₂ 纳米粒子对秸秆进行光催化预处理并进行产甲烷发酵,结果显示在 TiO₂ 质量浓度为 0.25 g/L 时,光催化秸秆的甲烷产率提高了 36%。张靖楠等^[26]以 TiO₂ 制备复合光催化材料,对玉米秸秆进行预处理,结果表明,在最优条件下,其木质素降解率并不高,虽然 TiO₂ 光催化对秸秆表面结构有明显的破坏作用,但由于没有后续对于木质纤维素的处理,导致其最终降解率偏低。迟雪文^[27]采用 KOH 对玉米芯进行预处理,与其方法相比,光催化耦合 NaOH 预处理法中 NaOH 经济实惠、用量较少、处理时间较短且效果更好,这是由于前期使用光催化处理稻秆改善和提高了 NaOH 对木质纤维素的预处理效果和效率。

2.8 不同处理方法效果对比

分别将未经处理、只经过光催化处理、只经过 NaOH 处理以及经过光催化-NaOH 处理所得的葡萄糖质量浓度进行对比,结果如图 6 所示。

由结果可知,在相同酶解条件下,未处理的稻秆,经酶解后葡萄糖质量浓度仅为 0.006 mg/mL;仅经光催化处理的稻秆经酶解后,其葡萄糖质量浓度为 (3.93±0.07) mg/mL;经 NaOH 处理的稻秆经酶解后葡萄糖质量浓度可达 (13.79±0.13)



a. TiO₂ 质量浓度和料液比; b. 光催化时间和料液比; c. 光催化时间和 TiO₂ 质量浓度

图 5 各因素交互作用的响应面图

Fig.5 Response surface plots showing the interactions of various factors

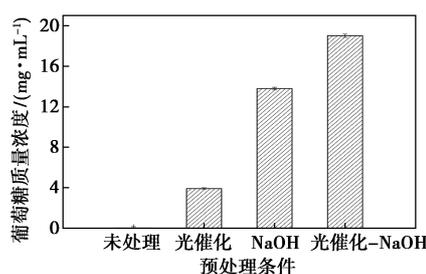


图 6 不同预处理条件下葡萄糖质量浓度的对比

Fig.6 Comparison of glucose mass concentration under different pretreatment conditions

mg/mL, 而光催化-NaOH 处理后, 稻秆经酶解的葡萄糖质量浓度可达到 (19.02 ± 0.16) mg/mL。通过对比可知, 经光催化耦合 NaOH 预处理的稻秆产葡萄糖效果为 NaOH 处理的 1.38 倍, 光催化处理的 4.84 倍, 而未经处理的稻秆几乎没有酶解出葡萄糖。由此可见, 光催化耦合 NaOH 预处理对于稻秆木质纤维素的降解具有较好的效果。

3 结论

木质纤维素的来源广泛, 是自然界中储量巨大的生物质资源, 其可以转化为可发酵糖进一步利用。但其复杂的内部结构使酶解糖化效率较低且导致预处理成本较高。因此, 高效的预处理技术的开发, 在促进木质纤维素酶解糖化方面具有重要的意义。

本研究以稻秆为原料, 选取 P25 型 TiO_2 作为光催化剂, 采用光催化耦合 NaOH 预处理法, 探究预处理过程对稻秆的影响。在单因素实验的基础上, 采用响应面法, 以纤维素酶酶解稻秆所得葡萄糖质量浓度为响应值进行响应面分析, 得到的光催化预处理最优条件: 料液比为 1:41 (g/mL), P25 型 TiO_2 质量浓度为 0.7 g/L, 光催化时间为 54 min。结果显示, 酶解后, 所得葡萄糖质量浓度最高为 19.02 mg/mL。本文构建了基于光催化 NaOH 高效预处理稻秆体系, 为木质纤维素的高效预处理提供了借鉴方法, 对推动生物质能源的利用提供了理论依据。

参考文献:

[1] 孟倩雅, 马桂霞, 母锐敏, 等. 污水中微藻的生物絮凝采收技术及展望[J]. 工业水处理, 2022, **42**(12): 34-40.
[2] 张根, 陈宝锐, 陈涛, 等. 农作物秸秆木质纤维素生物

降解酶及降解菌的研究进展[J]. 农学学报, 2023, **13**(2): 24-32.

- [3] 邱凤奇, 郑鑫, 冯嘉康, 等. 木质纤维素基磁性光催化复合材料的制备[J]. 林产工业, 2023, **60**(3): 22-28.
[4] 宝贵荣, 陈萨日娜, 领小, 等. Box-Behnken 响应面法优化荞麦秸秆中纤维素提取工艺[J]. 化学研究与应用, 2023, **35**(3): 532-538.
[5] 叶童妹, 李会珍, 张志军, 等. 深度共熔溶剂提取紫苏秸秆纤维素的研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, **34**(3): 164-171.
[6] 汪心娉, 赵鸿辉, 兰金鑫, 等. 氢氧化钠预处理对乳酸-氯化胆碱处理化学木浆中半纤维素选择性溶出的影响[J]. 东北林业大学学报, 2023, **51**(2): 133-137.
[7] 胡强, 王延云. 氯化胆碱/乳酸低共熔溶剂预处理对笋壳物化性质及酶解效率的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, **48**(23): 187-193.
[8] 李琳, 张继宇, 何艳峰, 等. 热碱预处理对玉米秸秆厌氧消化的影响[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2016, **43**(5): 1-7.
[9] 高凤芹, 陶雅, 吴洪新, 等. 稀碱预处理对杂交狼尾草木质纤维素降解的影响[J]. 中国草地学报, 2020, **42**(1): 58-67.
[10] 李亮荣, 杨小喆. 半导体核壳材料光催化剂分解水制氢研究进展[J]. 无机盐工业, 2023, **55**(3): 10-20.
[11] NIU K, CHEN P, ZHANG X, et al. Enhanced enzymatic hydrolysis of rice straw pretreated by alkali assisted with photocatalysis technology[J]. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2009, **84**(8): 1 240-1 245.
[12] ALVARADO-MORALES M, TSAPEKOS P, AWAIS M, et al. TiO_2 /UV based photocatalytic pretreatment of wheat straw for biogas production[J]. *Anaerobe*, 2017, **46**: 155-161.
[13] MICHELIN M, XIMENES E, MARIA DE L T, et al. Inhibition of enzyme hydrolysis of cellulose by phenols from hydrothermally pretreated sugarcane straw[J]. *Enzyme Microb. Tech.*, 2023, **166**: 110-227.
[14] 季金苟, 石朝辉, 郭静, 等. 混晶型纳米二氧化钛混悬液的制备及其光催化性能[J]. 材料导报, 2012, **26**(14): 29-32.
[15] 孟胜皓, 杜仕国, 鲁彦玲, 等. 不同晶型二氧化钛的制备及其对高氯酸铵的催化分解[J]. 固体火箭技术, 2020, **43**(2): 168-173.
[16] 范文宏, 曾佩, 卢惠婷, 等. 5 种不同晶型的纳米二氧化钛对金属铜生物积累的影响[J]. 生态毒理学报, 2017, **12**(5): 170-175.

- [17] 詹梦涛, 娄水珠, 刘仙花, 等. 3,5-二硝基水杨酸法测定液体糖中总糖含量[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2020, **29**(4): 317-321.
- [18] ZHU Z, REZENDE C A, SIMISTER R, et al. Efficient sugar production from sugarcane bagasse by microwave assisted acid and alkali pretreatment[J]. *Biomass Bioenerg.*, 2016, **93**: 269-278.
- [19] 王亮, 杜瑞成. 离子液体掺杂金属 Ru 改性 TiO₂ 光催化材料的制备及性能研究[J]. 化工新型材料, 2023, **51**(3): 132-135.
- [20] 王诗雨, 薛珊, 杨涛, 等. 纤维素基 TiO₂ 复合材料的制备及降解苯酚性能[J]. 应用化工, 2022, **51**(5): 1 335-1 340.
- [21] 孙伟, 梁光远, 赵丽平, 等. Cu₂O/TiO₂ 光催化降解罗丹明 B 工艺条件的研究[J]. 工业水处理, 2014, **34**(5): 54-57.
- [22] 艾兵, 何海南, 邓璇, 等. Mn-P 共掺杂氮化碳的制备及其光催化性能研究[J]. 化学试剂, 2022, **44**(3): 408-414.
- [23] 赵向杰, 袁彬乔, 黄天祥, 等. 大蒜秸秆提取工艺响应面法优化及粗提物杀螨毒力测定[J]. 中国农学通报, 2023, **39**(8): 99-105.
- [24] 李晓严, 郭蔚, 刘鑫玉. 响应面法优化超声辅助离子液体提取栀子中的西红花苷[J]. 化学试剂, 2021, **43**(3): 376-382.
- [25] SABEEH M, LIAQUAT R, MARYAM A. Effect of alkaline and alkaline-photocatalytic pretreatment on characteristics and biogas production of rice straw[J]. *Biore-sour. Technol.*, 2020, **309**: 123-149.
- [26] 张靖楠, 钱思桐, 昌行行, 等. 光催化预处理对秸秆暗发酵产氢性能的影响研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, **49**(15): 100-106.
- [27] 迟雪文. 甘蔗渣和木糖渣清洁高效预处理改善酶解糖化效果的研究[D]. 淮安: 淮阴工学院, 2019.

分析与测试

埃洛石基分子印迹荧光传感器检测罗丹明 6G

王天聪,李媛媛*,李皓文,刘刚,张铭亮,相皓龙,何娟

(河南工业大学 化学化工学院,河南 郑州 450001)

摘要:以无机材料埃洛石纳米管为载体,以聚集诱导发光分子为荧光基团,通过沉淀聚合法合成表面分子印迹荧光传感器,并将其用于检测罗丹明 6G。采用扫描电镜(SEM)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、X 射线衍射(XRD)等对传感器进行表征,表明已成功合成表面分子印迹荧光传感器。在检测罗丹明 6G 的过程中,传感器展现出由蓝色到橙色的荧光变化,其荧光强度之比(I_{565}/I_{418})与罗丹明 6G 浓度(0~5 $\mu\text{mol/L}$)具有良好的线性关系($R^2=0.9935$),检出限为 2 nmol/L。此外,该传感器选择性好、抗干扰能力强,且具有良好的荧光稳定性和可重复使用性。在实际样品检测中,罗丹明 6G 的回收率为 89.28%~109.73%,相对标准偏差小于 2.57%。该研究为罗丹明 6G 的高效快速检测提供了一种可行的方法。

关键词:表面分子印迹聚合物;荧光传感器;罗丹明 6G;埃洛石;聚集诱导发光

中图分类号:O657.39 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2023)12-0084-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0539

Detection of Rhodamine 6G by a HNTs-Based Molecularly Imprinted Fluorescence Sensor WANG Tian-cong, LI Yuan-yuan*, LI Hao-wen, LIU Gang, ZHANG Ming-liang, XIANG Hao-long, HE Juan (School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: A surface molecularly imprinted fluorescence sensor for detecting rhodamine 6G was synthesized by precipitation polymerization using inorganic material halloysite nanotubes as the carrier and aggregation-induced emission molecule as the fluorophore. The sensor was characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) and X-ray diffraction (XRD), which indicated that the surface molecularly imprinted fluorescence sensor was successfully synthesized. During the detection of rhodamine 6G, a color change from blue to orange was observed. Meanwhile, the ratio of fluorescence intensities (I_{565}/I_{418}) showed good linearity ($R^2=0.9935$) with rhodamine 6G in the concentration range of 0~5 $\mu\text{mol/L}$ with a detection limit of 2 nmol/L. In addition, the sensor exhibited good selectivity, strong interference immunity, and excellent fluorescence stability and reusability. The recoveries of rhodamine 6G ranged from 89.28% to 109.73%, with relative standard deviations less than 2.57% in the analysis of real samples. This study provided a feasible method for efficient and rapid detection of rhodamine 6G.

Key words: surface molecularly imprinted polymers; fluorescence sensor; rhodamine 6G; halloysite nanotubes; aggregation-induced emission

罗丹明 6G 是一种偶氮染料,因其着色能力强,被广泛应用于食品、化妆品、制药、纺织品和塑料工业等领域^[1]。然而,研究发现,罗丹明 6G 对呼吸系统有害,会引起皮肤刺激,损害人类的神经系统,造成呕吐、腹泻、胃炎感染等一系列负面影响,甚至存在致癌风险,对生命健康造成威胁^[2,3]。因此罗丹明 6G 被列为有毒有害污染物之一,已被一些国家禁止在食品中添加^[4]。

目前,对于罗丹明 6G 的检测多采用表面增强拉曼光谱法^[5-7]、固相萃取-高效液相色谱法^[1]、荧光检测法^[8]等方法。这些方法普遍存在仪器昂贵、需要专业技术人员操作、选择性较低等缺

点。同时,无法满足快速、灵敏检测罗丹明 6G 的

收稿日期:2023-08-16;网络首发日期:2023-10-11

基金项目:郑州市科技局自然科学基金项目协同创新专项项目(22ZZRDZX11);河南工业大学青年骨干教师培育计划项目;河南省高校国家级大学生创新创业训练计划项目(202210463027);河南工业大学自科创新基金项目(2020ZKCJ03)。

作者简介:王天聪(2000-),女,满族,河北石家庄人,硕士生,主要研究方向为现代分析技术、分子印迹荧光传感器。通讯作者:李媛媛,E-mail:yuanyuanli@haut.edu.cn。

引用本文:王天聪,李媛媛,李皓文,等.埃洛石基分子印迹荧光传感器检测罗丹明 6G[J].化学试剂,2023,45(12):84-89。

需求。

分子印迹荧光传感器通过将荧光基团嵌入分子印迹聚合物中,可实现待测物的特异性识别。分子印迹聚合物具有在尺寸、形状和识别位点上与目标物互补的中空结构,能够对目标物进行选择吸附^[9]。嵌入聚合物的荧光基团可将检测结果以荧光信号的形式在线输出,并通过荧光颜色的变化实现检测结果的肉眼可视化。基于上述优点,分子印迹荧光传感器的开发受到极大的关注。其中,表面分子印迹荧光传感器因结合位点多位于载体表面,避免了位点包埋而引起的吸附减少、传质速度慢等问题,具有更大的发展潜力^[10]。

埃洛石纳米管(Halloysite Nanotubes, HNTs)是一种天然的硅铝盐类材料,具有中空管状结构、大比表面积和高反应活性等优点^[11]。其中,较大的比表面积使 HNTs 具有显著的吸附和负载能力。除此之外,HNTs 还具有环境污染小、提纯工艺简单和成本低廉等优点,被广泛应用于陶瓷材料、催化、储氢等领域。

本文以 HNTs 为载体,以具有聚集诱导发光(Aggregation-Induced Emission, AIE)效应的有机荧光分子(TPP-M)为荧光基团,采用沉淀聚合法制备了表面分子印迹荧光传感器(HNTs@TPP-M@SMIPs)。HNTs@TPP-M@SMIPs 在吸附罗丹明 6G 后于 418 nm 处的荧光逐渐淬灭,565 nm 处的荧光逐渐增强,形成一种比率荧光响应。随着罗丹明 6G 的浓度逐渐增加,在肉眼上可观察到传感器由蓝色到橙色的荧光变化。该传感器对罗丹明 6G 具有良好的选择性,抗干扰能力强,为快速、灵敏检测罗丹明 6G 提供了一种可行的方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

SU8010 型扫描电子显微镜(日本 Hitachi 公司);FL970 型荧光光谱仪(上海天美科学仪器有限公司);MiniFlu600 型 X-射线粉末衍射仪(日本 Rigaku 公司);Spectrum 型 Two FT-IR 红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司);Malvern2000 型粒径分布仪(英国 Malvern 公司)。

罗丹明 6G(95%)、茜素红 S(90%)(上海安耐吉化学有限公司);华法林(98%,上海阿达玛斯贝塔化学试剂有限公司);甲基丙烯酸(MAA,化学纯,天津市大茂化学试剂厂);偶氮二异丁腈

(AIBN,化学纯,天津市福晨化学试剂厂);乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA,98%)、埃洛石、苏丹红 IV(99%)、溴化四丁铵(99%)(上海麦克林生化科技有限公司);诱惑红(99%)、苋菜红(85%)、1,2-二苯基-1,2-乙二胺(98%)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);胭脂红(99%,英国阿法埃莎化学有限公司);4,4'-二溴联苯酰(99%)、4-苯乙烯硼酸(97%)、四(三苯基膦)钯(98%)(北京百灵威科技有限公司);四氢呋喃(THF)、乙腈(天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 HNTs@TPP-M@SMIPs 的制备

TPP-M 参照先前的工作进行制备^[12]。HNTs@TPP-M@SMIPs 的制备过程如下:准确称取 0.3 g 埃洛石于 120 mL 乙腈中超声 30 min。然后加入 0.258 g(3 mmol) MAA,0.154 g(0.5 mmol) 替代模板华法林,继续超声 10 min。超声结束后,将溶液进行常温搅拌,依次加入 3.9 g(20 mmol) EGDMA,1 mL TPP-M(10^{-3} mol/L 的 THF 溶液)和 0.127 g(0.7 mmol) AIBN,并保持搅拌 20 min。之后,对装置进行 N₂ 保护,于 80 °C 冷凝回流 6 h。反应结束后,将产物进行抽滤。采用 V(甲醇):V(乙酸)=4:1 的洗脱液进行索氏提取洗脱模板分子,直至上清液无模板分子检出。将产物于 60 °C 真空干燥箱中烘干得到 HNTs@TPP-M@SMIPs。

HNTs@TPP-M@SNIPs 的制备除了不加入替代模板华法林之外,其余步骤与 HNTs@TPP-M@SMIPs 相同。TPP-M@MIPs 的制备除了不加载体 HNTs 外,其余步骤与 HNTs@TPP-M@SMIPs 相同。

1.3 荧光检测方法

用 PBS 缓冲液(pH 7)配制不同浓度的罗丹明 6G 溶液(0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5 μmol/L)备用。准确称取 20 mg HNTs@TPP-M@SMIPs 于锥形瓶中,分别加入 8 mL 不同浓度的罗丹明 6G 溶液。于振荡器上振荡 30 min 后抽滤收集固体。常温干燥后,将固体安装进样品槽中进行荧光测定。光电倍增电压为 625 V,激发和发射狭缝带宽均为 1 nm,固定激发波长为 360 nm,扫描范围为 370~700 nm。

2 结果与讨论

2.1 HNTs@TPP-M@SMIPs 的表征

图 1 为 HNTs、HNTs@TPP-M@SMIPs、HNTs@TPP-M@SNIPs 和 TPP-M@MIPs 的红外光谱图。

3 697 与 3 619 cm^{-1} 为 HNTs 中 O—H 的拉伸振动吸收峰。907 cm^{-1} 为 O—H 的垂直振动吸收峰。1 028 cm^{-1} 为 Si—O 的拉伸吸收峰。524 与 463 cm^{-1} 为 Al—O—Si 的拉伸振动吸收峰^[13]。在 HNTs@TPP-M@SMIPs 和 HNTs@TPP-M@SNIPs 中均可以找到 HNTs 在 463、524 cm^{-1} 处的特征峰,表明聚合物成功负载在 HNTs 上。除此之外,2 987 cm^{-1} 为 C—H 的伸缩振动吸收峰。1 724 cm^{-1} 为 C=O 的伸缩振动吸收峰。这些特征峰均可以在 HNTs@TPP-M@SMIPs、HNTs@TPP-M@SNIPs 和 TPP-M@MIPs 上找到,表明功能单体 MAA 和交联剂 EGDMA 成功合入聚合物中。

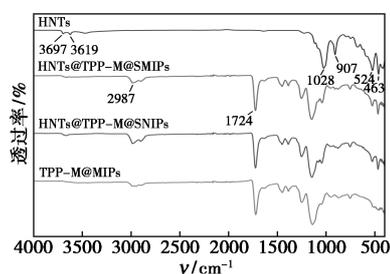


图 1 FT-IR 图

Fig.1 FT-IR images

为了进一步验证聚合物包裹在 HNTs 上,对 HNTs 和 HNTs@TPP-M@SMIPs 进行 XRD 表征。如图 2 所示, $2\theta = 11.7^\circ$ 、 19.84° 和 62.28° 为 HNTs 的特征衍射峰^[14]。这些特征峰均能在 HNTs@TPP-M@SMIPs 中找到,证明了聚合物包裹在 HNTs 表面。

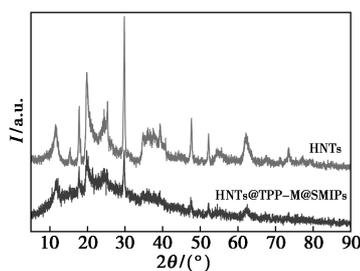
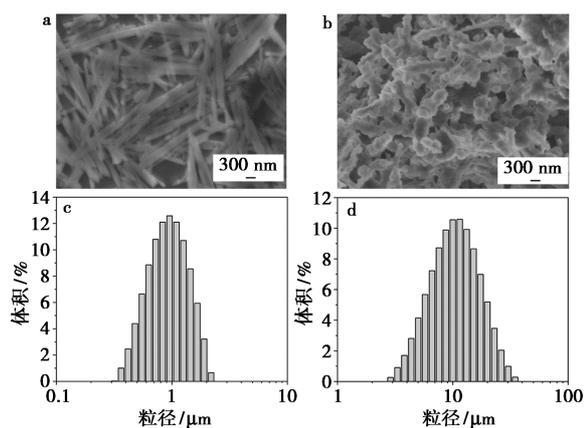


图 2 XRD 图

Fig.2 XRD images

图 3a、3b 分别为 HNTs 和 HNTs@TPP-M@SMIPs 的扫描电镜图。从图中可观察到 HNTs 为管状结构,且表面较为光滑,与报道相似^[15]。HNTs@TPP-M@SMIPs 也可大致看出具有管状形状,但表面与 HNTs 相比更加粗糙,推测是聚合物包裹于 HNTs 表面所致。对两者进行粒径分析(图 3c、3d),测得 HNTs 的平均直径为 1.062 μm , HNTs@TPP-M@SMIPs 的平均直径为 12.459 μm 。



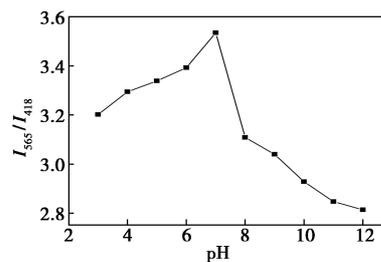
a、c. HNTs; b、d. HNTs@TPP-M@SMIPs

图 3 SEM 和粒径分布图

Fig.3 SEM images and particle size distributions

2.2 检测条件优化

pH 值是影响聚合物吸附性能的一个重要因素,因此探究 HNTs@TPP-M@SMIPs 随 pH 变化的荧光响应情况。如图 4 所示,在 pH 3~12 范围内,565 和 418 nm 处的荧光强度比值(I_{565}/I_{418})随 pH 增大出现先增大后减小的现象,并于 pH 7 时达到最大值。究其原因,这是由于当 $\text{pH} < 7$ 时, H^+ 的存在会影响 HNTs@TPP-M@SMIPs 内部的结合位点与待测物的结合,同时,罗丹明 6G 上的羧基在酸性溶液中容易质子化;当 $\text{pH} > 7$ 时,溶液为碱性,罗丹明 6G 会存在水解,破坏结合位点的结构^[16]。所以,在 pH 7 时为最适宜的检测环境。

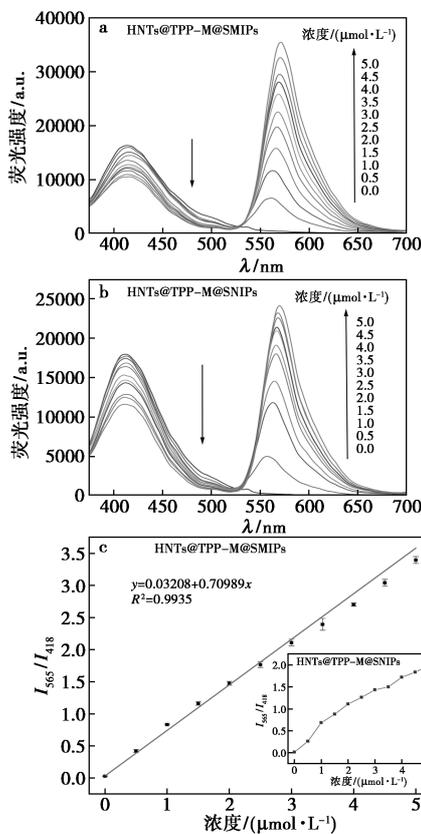
图 4 不同 pH 下的 (I_{565}/I_{418})Fig.4 (I_{565}/I_{418}) at different pH

2.3 荧光响应

在优化条件下,考察吸附不同浓度的罗丹明 6G 后 HNTs@TPP-M@SMIPs 与 HNTs@TPP-M@SNIPs 的荧光响应情况(图 5a、5b)。随着罗丹明 6G 的浓度增加,两者在 418 nm 处的荧光强度降低,而 565 nm 处的荧光强度增加,呈现比率变化。传感器在紫外灯下其荧光颜色从蓝色变为橙色,且 HNTs@TPP-M@SNIPs 的颜色变化程度要小于 HNTs@TPP-M@SMIPs。同时,两者的 ($I_{565}/$

I_{418}) 也随罗丹明 6G 浓度的增加逐渐增大(图 5c)。但对两者吸附同一浓度的罗丹明 6G 后的 (I_{565}/I_{418}) 进行比较,可以观察到 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 的比值均高于 HNTs@ TPP-M@ SNIPs。说明 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 对罗丹明 6G 有更强的吸附能力。从 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 的校准曲线可知, (I_{565}/I_{418}) 与罗丹明 6G 浓度 (0 ~ 5 $\mu\text{mol/L}$) 具有良好的线性关系。根据 $3S_b/m$ 计算,检出限为 2 nmol/L (S_b 为空白标准偏差, m 为校准曲线斜率)。

为了探究产生上述现象的原因,分别测定了 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 的激发和发射光谱以及罗丹明 6G 的紫外光谱(图 6)。从图中可以观察到罗丹明 6G 的紫外吸收峰与 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 的激发峰存在重叠,推测传感器在 418 nm 处的荧光淬灭可能是由于内滤效应^[17]或荧光共振能量转移^[18]。根据报道,荧光基团的荧光寿命在荧光共振能量转移中会发生改变,在内滤效应中不会发生变化^[19]。因此,为进一步探究荧光淬灭机理,分别对 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 和 HNTs@



a、b. 荧光光谱; c. (I_{565}/I_{418}) 随罗丹明 6G 浓度变化的曲线

图 5 荧光响应结果

Fig.5 Fluorescence response results

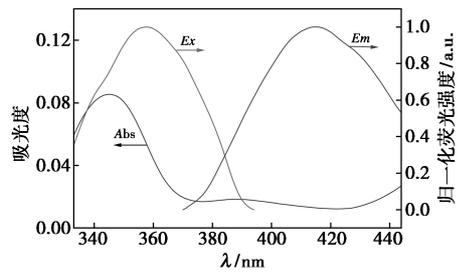
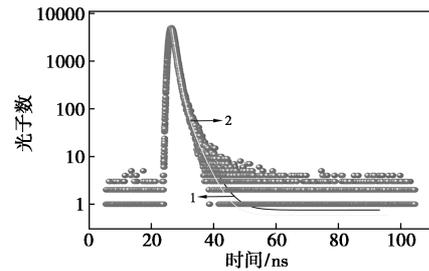


图 6 荧光光谱和紫外光谱图

Fig.6 Fluorescence spectra and UV absorption spectrum



1. HNTs@ TPP-M@ SMIPs; 2. HNTs@ TPP-M@ SMIPs+罗丹明 6G

图 7 荧光衰减谱图

Fig.7 Fluorescence decay profiles

TPP-M@ SMIPs 与罗丹明 6G 的混合样品进行荧光寿命的测定,结果如图 7 所示。两者的荧光寿命分别为 1.402、1.329 ns,几乎相同。因此,认为 418 nm 处的荧光淬灭是由内滤效应引起的。

2.4 性能研究

2.4.1 吸附速率的研究

图 8 对 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 和 TPP-M@ MIPs 的吸附速率进行了测试。从图中观察到,随着吸附时间的增加,两者的 (I_{565}/I_{418}) 均呈现先增大后平稳的现象。HNTs@ TPP-M@ SMIPs 在 0 ~ 15 s 吸附速率较快,15 ~ 120 s 变缓,在 180 s 处实现了吸附平衡。这表明 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 可以实现快速吸附平衡。而 TPP-M@ MIPs 只在 0 ~ 3 s 内实现快速吸附,3 ~ 180 s 内吸附缓慢,在 300 s 达到平衡。产生这种现象的原因是由于基于载体的 HNTs@ TPP-M@ SMIPs 的印迹位点多

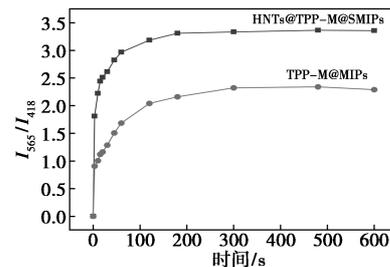


图 8 吸附速率对比图

Fig.8 Comparison of adsorption rates

裸露在外,可快速吸附待测物。因此,HNTs@TPP-M@SMIPs的吸附速率更快,吸附量更大,达到吸附平衡的时间更短。而TPP-M@MIPs由于没有载体,更多的印迹位点被包裹在聚合物内部,从而导致吸附速率较慢,吸附量较小,达到平衡的时间更长。

2.4.2 稳定性、重复使用性和选择性研究

通过连续 13 d 测定 HNTs@TPP-M@SMIPs 的荧光光谱,可以观察到 418 nm 处的荧光强度基本保持不变(图 9),证明该传感器具有良好的荧光稳定性。同时,对 HNTs@TPP-M@SMIPs 的重复使用性进行研究(图 10),说明该传感器具有不少于 9 次的重复使用性。

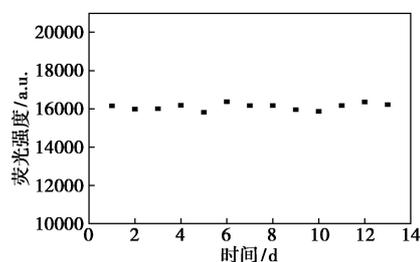


图 9 HNTs@TPP-M@SMIPs 的荧光稳定性

Fig.9 Fluorescence stability of HNTs@TPP-M@SMIPs

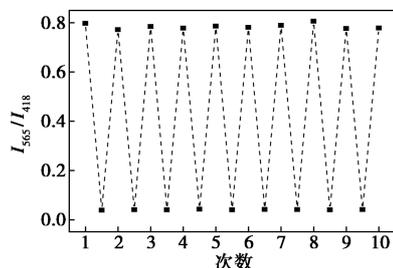


图 10 HNTs@TPP-M@SMIPs 的重复使用性

Fig.10 Reusability of HNTs@TPP-M@SMIPs

为了评价 HNTs@TPP-M@SMIPs 对罗丹明 6G 的选择性,分别对吸附相同浓度的罗丹明 6G、诱惑红、茜素红 S、胭脂红、苏丹红 IV、苋菜红的 HNTs@TPP-M@SMIPs 以及空白样品进行荧光检

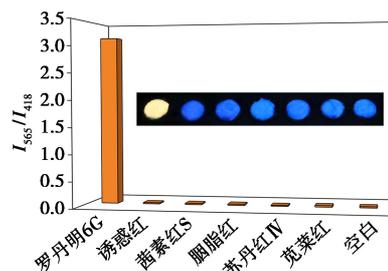


图 11 HNTs@TPP-M@SMIPs 的选择性

Fig.11 Selectivity of HNTs@TPP-M@SMIPs

测。结果显示,吸附罗丹明 6G 后 HNTs@TPP-M@SMIPs 的(I_{565}/I_{418})最大(图 11)。同时,其荧光颜色呈橙色,明显区别于其他色素,表明该传感器对罗丹明 6G 具有优异的选择性。

2.4.3 抗干扰性研究

抗干扰性研究是检测传感器能否应用于复杂实际样品的一个重要性能指标。因此,对吸附混合色素溶液的 HNTs@TPP-M@SMIPs 进行荧光检测(图 12)。由图可见,吸附混合色素溶液和吸附罗丹明 6G 的 HNTs@TPP-M@SMIPs 的(I_{565}/I_{418})差别不大,表明该传感器抗干扰能力强。

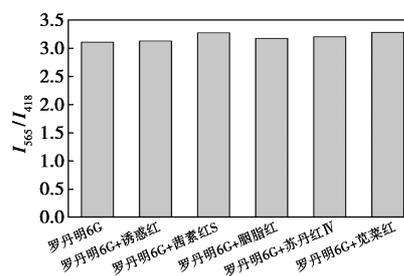


图 12 HNTs@TPP-M@SMIPs 的抗干扰性

Fig.12 Interference immunity of HNTs@TPP-M@SMIPs

2.4.4 实际样品检测

为了分析 HNTs@TPP-M@SMIPs 对实际样品的检测效果,分别对湖水和辣椒进行了 1.50、3.00 和 4.50 $\mu\text{mol/L}$ 3 个浓度的加标检测。湖水样品按照文献[20]进行处理。从当地莲湖取得湖水,用量筒准确量取 180 mL 湖水样品通过 0.22 μm 滤膜过滤,收集滤液并用 PBS 缓冲溶液(pH 7)定容至 250 mL,备用。辣椒样品的处理方法在参考文献[21]的基础上进行适当改动。从当地超市购得新鲜干辣椒,研磨后取 5 g 于 300 mL 烧杯中,加入 90 mL PBS 缓冲溶液进行超声处理 10 min。然后通过离心收集上清液并采用 0.22 μm 滤膜过滤。该过程重复 3 次,合并滤液,用 PBS 缓冲溶液定容至 250 mL,备用。随后,进

表 1 湖水和辣椒中罗丹明 6G 的检测结果

Tab.1 Results of rhodamine 6G in lake water and chili

样品	加标浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	检测浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/ %	RSD/ %
湖水	0.00	未检出	—	—
	1.50	1.51	100.50	0.80
	3.00	2.99	99.59	1.22
	4.50	4.02	89.28	1.64
辣椒	0.00	未检出	—	—
	1.50	1.65	109.73	1.04
	3.00	3.02	100.53	1.92
	4.50	4.08	90.59	2.57

行加标实验。随着罗丹明 6G 在实际样品中加标浓度的增加,传感器由最初的蓝色荧光逐渐过渡为橙色荧光,与 2.3 中吸附对应浓度罗丹明 6G 后传感器的荧光颜色相一致。且湖水和辣椒中 3 个浓度水平加标量的回收率均较好 (89.28% ~ 109.73%),相对标准偏差小于 2.57%,如表 1 所示。以上结果表明,该方法可以用于实际样品中罗丹明 6G 的检测。

3 结论

本文以埃洛石为载体制备了表面分子印迹荧光传感器 HNTs@TPP-M@SMIPs。该传感器在吸附罗丹明 6G 后,418 nm 处的荧光强度减小,565 nm 处的荧光强度增大,两者呈现出比率型变化。此外,该传感器对罗丹明 6G 具有选择性识别能力,且具有检测速度快、抗干扰能力强、荧光稳定性和重复使用性好等优点。在实际样品检测中,该方法回收率高,相对标准偏差小。以上结果表明,该传感器可用于实际样品中罗丹明 6G 的高效快速检测,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] CHIANG T L, WANG Y C, DING W H. Trace determination of rhodamine B and rhodamine 6G dyes in aqueous samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection [J]. *J. Chin. Chem. Soc.*, 2012, **59**(4): 515-519.
- [2] RAMZAN U, SHAKOORI F R, ZAHID M T, et al. Biodegradation and decolorization of textile azo dyes by paramagnetic caudatum isolated from industrial wastewater [J]. *Water*, 2022, **14**(21): 3 553-3 566.
- [3] SAAD I, RALHA N, ABUKHADRA M R, et al. Recent advances in photocatalytic oxidation techniques for decontamination of water [J]. *J. Water Process. Eng.*, 2023, **52**: 103 572.
- [4] ALFORD R, SIMPSON H M, DUBERMAN J, et al. Toxicity of organic fluorophores used in molecular imaging: Literature review [J]. *Mol. Imaging*, 2009, **8**(6): 341-354.
- [5] GIRÃO A V, PINHEIRO P C, FERRO M, et al. Tailoring gold and silver colloidal bimetallic nanoalloys towards SERS detection of rhodamine 6G [J]. *RSC Adv.*, 2017, **7**(26): 15 944-15 951.
- [6] WEI W, GONG X, SUN J, et al. Cellophane paper-based surface-enhanced raman scattering (SERS) substrates for detecting rhodamine 6G in water and chili powder [J]. *Vib. Spectrosc.*, 2019, **102**: 52-56.
- [7] XU D, ZHANG Y, ZHANG S, et al. Copper nanoleaves SERS substrates with high surface roughness for sensitive detection crystal violet and rhodamine 6G [J]. *Opt. Laser Technol.*, 2022, **145**: 107 502.
- [8] CHAN K K, YAP S H K, GIOVANNI D, et al. Water-stable perovskite quantum dots-based FRET nanosensor for the detection of rhodamine 6G in water, food, and biological samples [J]. *Microchem. J.*, 2022, **180**: 107 624.
- [9] 李青轻, 陈磊, 蒲婷, 等. 基于分子印迹-流动注射化学发光传感器测定香草醛 [J]. *分析试验室*, 2021, **40**(9): 1 065-1 069.
- [10] 温宇浩, 孙大妮, 张悦, 等. 喹诺酮类抗生素的分子印迹电化学传感检测 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(9): 1 334-1 341.
- [11] 刘玲, 邵紫雅, 贾天越, 等. 埃洛石纳米管负载改性及其在智能防腐涂层中的应用研究进展 [J]. *中国腐蚀与防护学报*, 2022, **42**(4): 524-530.
- [12] LI Y Y, HE W Y, PENG Q C, et al. Aggregation-induced emission luminogen based molecularly imprinted ratio-metric fluorescence sensor for the detection of rhodamine 6G in food samples [J]. *Food Chem.*, 2019, **287**: 55-60.
- [13] WANG H G, HE J, SONG L X, et al. Etching of halloysite nanotubes hollow imprinted materials as adsorbent for extracting of zearalenone from grain samples [J]. *Microchem. J.*, 2020, **157**: 104 953.
- [14] AYTEKIN M T, HOSGUN H L. Characterization studies of heat-treated halloysite nanotubes [J]. *Chem. Zvesti.*, 2020, **74**(12): 4 547-4 557.
- [15] FIZIR M, RICHA A, HE H, et al. A mini review on molecularly imprinted polymer based halloysite nanotubes composites; Innovative materials for analytical and environmental applications [J]. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 2020, **19**(2): 241-258.
- [16] WU X, TANG S, ZHAO P, et al. One-pot synthesis of ternary-emission molecularly imprinted fluorescence sensor based on metal-organic framework for visual detection of chloramphenicol [J]. *Food Chem.*, 2023, **402**: 134 256.
- [17] SUN L J, SUN C N, GE Y, et al. Inner filter effect-based upconversion fluorescence sensing of sulfide ions [J]. *Anal. Methods*, 2022, **14**(37): 3 680-3 685.
- [18] MUTHURASU A, GANESH V. Tuning optical properties of nitrogen-doped carbon dots through fluorescence resonance energy transfer using rhodamine B for the ratio-metric sensing of mercury ions [J]. *Anal. Methods*, 2021, **13**(15): 1 857-1 865.
- [19] LIU H B, XU C Y, BAI Y L, et al. Interaction between fluorescein isothiocyanate and carbon dots: Inner filter effect and fluorescence resonance energy transfer [J]. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2017, **171**(15): 311-316.
- [20] LI H, LI D, WANG J, et al. A novel imprinted sensor based on Ag-modified composite MOFs for selective detection of rhodamine B in river [J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2022, **10**(5): 108 163.
- [21] CHAO Y, PANG J, BAI Y, et al. Graphene-like BN@SiO₂ nanocomposites as efficient sorbents for solid-phase extraction of rhodamine B and rhodamine 6G from food samples [J]. *Food Chem.*, 2020, **320**: 126 666.

黄芪中主要成分含量测定及其抗氧化活性研究

孙宇¹, 陈雪², 唐守祥³, 张微⁴, 张海鹏⁵, 单春光⁶, 刘韩^{*4}

(1. 齐齐哈尔医学院 医药科学研究院, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 2. 齐齐哈尔医学院 研究生处, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 3. 齐齐哈尔市社会科学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 4. 齐齐哈尔医学院 科研处, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 5. 齐齐哈尔市农业行业协会, 黑龙江 齐齐哈尔 161000; 6. 中粮集团, 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

摘要: 利用超声提取法对 24 批黄芪进行提取, 分别测定总皂苷、总黄酮、总多糖的含量, 综合评价品种、产地及生长年限对黄芪各成分含量的影响。采用 DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 联用技术建立黄芪抗氧化活性成分筛选方法, 利用 DPPH 及 ABTS 实验验证单体化合物的抗氧化活性。结果表明, 内蒙古赤峰一年的膜荚黄芪的皂苷含量最高, 黑龙江大兴安岭野生膜荚黄芪的黄酮含量最高, 内蒙古武川一年的膜荚黄芪的多糖含量最高。抗氧化成分筛选实验结果显示, 黄酮类化合物的抗氧化活性优于皂苷类成分和多糖类成分。从构效关系上分析, 黄酮类化合物连接的羟基数越多其抗氧化活性越强, 黄酮上的羟基成苷后, 抗氧化活性下降。结果可为合理利用黄芪资源及黄芪农产品区域品牌资源提升提供理论依据。

关键词: 黄芪; 总黄酮; 总皂苷; 总多糖; 含量测定; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0090-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0606

Determination of the Main Components of *Astragalus Membranaceus* and Evaluation of Their Antioxidant Activity SUN Yu¹, CHEN Xue², TANG Shou-xiang³, ZHANG Wei⁴, ZHANG Hai-peng⁵, SHAN Chun-guang⁶, LIU Han^{*4} (1. Research Institute of Medicine and Pharmacy, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161000, China; 2. Department of Graduate, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161000, China; 3. Qiqihar Academy of Social Sciences, Qiqihar 161000, China; 4. Department of Scientific Research, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161000, China; 5. Qiqihar Agricultural Industry Association, Qiqihar 161000, China; 6. COFCO Corporation, Qiqihar 161000, China)

Abstract: Twenty-four batches of *A. membranaceus* were extracted by ultrasound method. The contents of total saponins, total flavonoids and total polysaccharides were determined to comprehensively evaluate the effects of variety, origin and growth years on the content of various components of *Astragalus membranaceus*. DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS method was developed for screening antioxidants from *A. membranaceus*. DPPH and ABTS experiments were used to verify the antioxidant activity of monomer compounds. The results showed that one year *A. membranaceus* from Neimenggu Chifeng had the highest content of total saponins. Wild *A. membranaceus* from Heilongjiang Daxinanling had the highest content of total flavonoids. One year *A. membranaceus* from Neimenggu Wuchuan had the highest content of total polysaccharides. The results showed that flavonoids had better antioxidant activity than that of saponins and polysaccharides. By structure-activity relationship was discussed. The more hydroxyl groups attached to the flavonoids, the higher antioxidant activity they had. The attachment of glucoside to flavonoids would reduce the antioxidant activity. This study will provide theoretical basis for rational utilization of *A. membranaceus* and promotion of regional brand resources of *A. membranaceus*.

Key words: *Astragalus membranaceus*; total flavonoids; total saponins; total polysaccharides; content determination; antioxidant activity

黄芪为多年生草本豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongolicus* (Bunge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根, 有益气、固表、托毒生肌和利水退肿等功效^[1]。现代研究表明, 黄芪的主要成分为皂苷类、黄酮类、多糖类等^[2-4]。黄芪皂苷分为有黄芪皂苷、乙酰基黄芪皂苷、异黄芪皂苷和大豆皂苷 4 大类。活性研究表明皂苷类具有免疫调节、抗心脑血管损伤、降血糖和抗病毒等活性^[5-8]。黄芪黄酮主要包括毛蕊异黄酮、芒柄花素

及其糖苷等成分, 具有抗辐射损伤、清除氧自由基、增强免疫、调控离子通道蛋白和抗病毒等活

收稿日期: 2023-09-15; 网络首发日期: 2023-10-12

基金项目: 黑龙江省哲学社会科学规划项目 (21GLB067)。

作者简介: 孙宇 (1987-), 女, 辽宁鞍山人, 博士, 副研究员, 主要研究方向为天然药物活性成分提取分离及结构鉴定。

通讯作者: 刘韩, E-mail: liuhan204@163.com。

引用本文: 孙宇, 陈雪, 唐守祥, 等. 黄芪中主要成分含量测定及其抗氧化活性研究[J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 90-97。

性^[9-15]。黄芪多糖具有抗衰老、改善认知功能、降血压、抗动脉粥样硬化、抗骨质疏松等活性^[16-21]。黄芪产地来源广泛,质量影响因素较多。明确不同基原、不同生长年限、野生与栽培以及不同产地黄芪药材质量的差异,是合理利用黄芪资源的基础性研究工作。基于此,本实验收集了 24 批黄芪药材,测试了各批次黄芪中总黄酮、总皂苷、总多糖的含量。

自由基化学性质活跃,在体内蓄积易引发细胞氧化,导致心血管系统、神经系统及免疫系统等疾病^[22]。黄芪具有较好的抗氧化活性,可延缓或阻止氧化应激反应^[23]。因此,建立快速筛选天然产物复杂体系中的抗氧化活性成分具有突破瓶颈的重要现实意义。DPPH 自由基是一种良好的体外抗氧化筛查剂,本文结合 UHPLC 高效分离能力及 QTOF-MS/MS 高灵敏度、高精度的化合物定性确认能力,建立 DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 方法,通过对比与 DPPH 自由基反应前后 UHPLC-QTOF-MS/MS 谱图中各化合物峰面积的变化,快速筛选天然产物复杂体系中的抗氧化活性成分^[24-27]。因此,本实验利用该技术简便快速筛选黄芪中抗氧化活性成分,并利用实验对预测结果进行了验证,以期为今后合理利用黑龙江省黄芪资源及建立黄芪类农产品品牌资源提升提供理论依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

AB Sciex Triple 型 TOF 4600 质谱仪(美国 AB Sciex 公司);30A 型岛津超高效液相色谱仪(日本岛津公司);20~200、200~1 000、1 000~5 000 μL 移液枪(德国 Eppendorf 公司);AB135-S 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);Safire2 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司);B8800 型超声波清洗器(美国必能信公司);OSB-2100 型旋转蒸发器(日本 EYELA 仪器有限公司);Elix Essential 5 型 UV 纯水仪(德国 Merck Millipore 公司);SHZ-3 型循环水多用真空泵(上海沪西分析仪器有限公司)。

芦丁(批号:Lot.No.20170914,纯度>98.0%,国药集团化学试剂有限公司);黄芪皂苷 I(批号:16061307,纯度>98.0%)、黄芪皂苷 II(批号:151019,纯度>98.0%)、黄芪甲苷(批号:17073102,纯度>98.0%)、毛蕊异黄酮(批号:17102006,纯度>98.0%)、毛蕊异黄酮苷(批号:

17112404,纯度>98.0%)、芒柄花苷(批号:16061401,纯度>98.0%)、刺芒柄花素(批号:151029,纯度>98.0%)、7,2'-二羟基 3',4'-二甲氧异黄酮(批号:160816,纯度>98.0%)、3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷(批号:151102,纯度>98.0%)(成都普菲德生物技术有限公司);葡萄糖(批号:M0509AS,纯度>98.0%,大连美仑生物技术有限公司);ABTS(纯度>98.0%)、DPPH(纯度>97.0%)(东京化成工业株式会社);浓硫酸(分析纯,纯度 95.0%~98%)、乙醇(分析纯,纯度>99.7%)、L-(+)抗坏血酸(纯度>99.7%)(天津市科密欧化学试剂有限公司);过硫酸钾(纯度>99%,优耐德引发剂(上海)有限公司);氢氧化钠(分析纯,纯度>96%,天津市凯通化学试剂有限公司);苯酚(分析纯,天津市元力化工有限公司);香草醛(纯度>99%,天津市光复精细化工研究所);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Merck 公司);甲酸(质谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);水为纯化水。

24 批黄芪药材由齐齐哈尔医学院黄芪研究院提供(表 1)。经齐齐哈尔医学院药学院郭丽娜

表 1 样品信息

Tab.1 Information of samples

编号	地点	采摘时间	黄芪品种
1	甘肃陇西 1	1 年	蒙古黄芪
2	甘肃陇西 2	1 年	蒙古黄芪
3	山西运城	1 年	蒙古黄芪
4	内蒙古固阳 1	1 年	蒙古黄芪
5	内蒙古固阳 2	1 年	蒙古黄芪
6	黑龙江大兴安岭	2 年	蒙古黄芪
7	黑龙江大兴安岭	野生(未知)	蒙古黄芪
8	河北安国	1 年	膜荚黄芪
9	河北唐山 1	1 年	膜荚黄芪
10	河北唐山 2	1 年	膜荚黄芪
11	内蒙古赤峰	1 年	膜荚黄芪
12	黑龙江加格达奇	1 年	膜荚黄芪
13	内蒙古武川	1 年	膜荚黄芪
14	黑龙江大兴安岭	4 年	膜荚黄芪
15	黑龙江大兴安岭	4 年以上	膜荚黄芪
16	黑龙江大兴安岭	野生(未知)	膜荚黄芪
17	黑龙江讷河 1	2 年	膜荚黄芪
18	黑龙江讷河 2	2 年	膜荚黄芪
19	黑龙江讷河 1	1 年	膜荚黄芪
20	黑龙江讷河 2	1 年	膜荚黄芪
21	黑龙江梅里斯	1 年	膜荚黄芪
22	黑龙江依安	3 年	膜荚黄芪
23	黑龙江依安	2 年	膜荚黄芪
24	黑龙江齐齐哈尔	2 年	膜荚黄芪

教授鉴定为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 或蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根。

1.2 实验方法

1.2.1 总皂苷含量测定

1.2.1.1 供试品溶液的配制

取干燥的黄芪药材粉末(过 40 目筛)约 10.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 75% 乙醇-水溶液 150 mL, 称定质量, 超声提取 1 h, 放冷后再称定质量, 用 75% 乙醇-水补足减失的质量, 过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液作为测量总皂苷的供试品溶液。

1.2.1.2 标准品溶液的配制

精密称定黄芪甲苷 25.0 mg, 并置于 25 mL 容量瓶中。加入无水乙醇溶解并稀释定容至刻度, 即得标准品储备液。精密量取标准品储备液 0、1、2、3、4、5 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 并利用无水乙醇定容至刻度, 即得系列标准品溶液。

1.2.1.3 黄芪总皂苷的含量测定

取各标准品溶液 1 mL 于试管, 加入 1 mL 8% 香草醛无水乙醇溶液, 充分混匀, 置冰浴中缓慢加入 72% 硫酸溶液 10 mL, 摇匀后置 62 °C 水浴中保温 20 min, 取出后立即冰浴冷却至室温。利用酶标仪在 544 nm 处测定吸光度值, 以黄芪甲苷标准溶液浓度 (C , mg/mL) 为横坐标, 吸光度 (A) 值为纵坐标作图, 构建标准曲线回归方程。

1.2.1.4 方法学考察

精密实验:精密移取 1.2.1.1 标准储备液 3.0 mL, 置于 5 mL 容量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度, 用香草醛-硫酸比色法显色后, 于 544 nm 处平行测定吸光度 6 次, 计算 RSD 值。

重复性实验:取同一黄芪样品 5 份, 按 1.2.1.1 方法制备, 显色后于 544 nm 处测定吸光度值, 计算 RSD 值。

稳定性实验:精密移取 1.2.1.1 的供试品溶液, 用香草醛-硫酸比色法显色后, 分别于 0、10、20、30、40、50、60 min 测定 544 nm 处吸光度, 计算 RSD 值。

加样回收率实验:取 9 份同一已知总皂苷量的黄芪各 5.0 g, 分别加入相当于样品中总皂苷的 80%、100%、120% 的对照品溶液, 每个浓度平行配制 3 份, 按 1.2.1.2 方法制备, 显色后, 于 544 nm 处测定吸光度值, 并计算加样回收率及 RSD 值。

1.2.2 总黄酮含量测定

1.2.2.1 供试品溶液的配制

供试品溶液的配制方法同 1.2.1.1。

1.2.2.2 系列标准品溶液配制

精密称取 20.0 mg 芦丁标准品, 用 75% 乙醇-水溶解并定容至 50 mL, 配制成 0.4 mg/mL 的标准储备溶液, 分别取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 标准品溶液于 10 mL 容量瓶中, 用 75% 乙醇-水定容, 即得系列标准品溶液。

1.2.2.3 黄芪总黄酮的含量测定

取各标准品溶液 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加入 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL, 反应 6 min。然后向容量瓶中加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL, 反应 6 min。接着, 向容量瓶中加入 1 mol/L NaOH 溶液 4 mL, 并用 75% 乙醇-水定容至 10 mL, 反应 10 min。利用酶标仪在 510 nm 处测定吸光度值, 以芦丁标准溶液浓度 (C , mg/mL) 为横坐标, 吸光度 (A) 值为纵坐标作图, 构建标准曲线回归方程。

1.2.2.4 方法学考察

精密实验:精密移取 1.2.2.1 的标准储备溶液 0.6 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用 75% 乙醇-水溶液定容至刻度, 采用 NaNO_2 - AlNO_3 - NaOH 比色法显色后, 于 510 nm 处吸光度 6 次, 计算 RSD 值为 0.58%, 表明仪器精密度良好。

重复性实验:取同一黄芪样品 5 份, 按 1.2.2.2 中方法制备, 显色后, 于 510 nm 处测定吸光度值, 计算 RSD 值。

稳定性实验:精密移取 1.2.2.1 的供试品溶液, 采用 NaNO_2 - AlNO_3 - NaOH 比色法显色后, 分别于 0、10、20、30、40、50、60 min 测定 510 nm 处吸光度, 计算 RSD 值。

加样回收率实验:取 9 份同一已知黄酮含量的黄芪各 5.0 g, 分别加入相当于样品中总黄酮量的 80%、100%、120% 的对照品溶液, 每个浓度平行配制 3 份, 按 1.2.2.2 方法制备, 显色后, 于 510 nm 处测定吸光度值, 计算加样回收率及 RSD 值。

1.2.3 黄芪总多糖的含量测定

1.2.3.1 供试品溶液的配制

取干燥的黄芪药材粉末(过 40 目筛)约 10.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入超纯水 150 mL, 称定质量, 超声提取 1 h, 放冷后再称定质量, 用超纯水补足减失的质量, 过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液作为测量总多糖的供试品溶液。

1.2.3.2 标准品溶液的配制

精密称取葡萄糖标准品 100.0 mg, 用蒸馏水

溶解并定容至 100 mL, 配制成 1 mg/mL 的标准储备液, 分别取 0、1、2、3、4、5、6 mL 标准品溶液于 50 mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 即得系列标准品溶液。

1.2.3.3 黄芪总多糖的含量测定

取各标准品溶液 0.3 mL 于试管, 加入 0.6 mL 6% 苯酚水溶液, 充分混匀, 加入 3 mL 98% 浓硫酸, 摇匀后置于 100 °C 沸水中反应 15 min, 立即冷却至室温。利用酶标仪在 490 nm 处测定吸光度值, 以葡萄糖标准溶液浓度 (C , mg/mL) 为横坐标, 吸光度 (A) 值为纵坐标作图, 构建标准曲线回归方程。

1.2.3.4 方法学考察

精密度实验: 精密移取 1.2.3.1 下的标准储备溶液 3 mL, 于 50 mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 采用苯酚-硫酸比色法显色后, 于 490 nm 处平行测定吸光度 6 次。计算 RSD 值。

重复性实验: 取同一黄芪样品 6 份, 按 1.2.3.1 中方法制备, 显色后, 于 490 nm 处测定吸光度值, 计算 RSD 值。

稳定性实验: 精密移取 1.2.3.1 下的供试品溶液, 采用苯酚-硫酸比色法显色后, 分别于 0、10、20、30、40、50、60 min 测定 490 nm 处吸光度, 计算 RSD 值。

加样回收率实验: 取 9 份已知总多糖量的黄芪各 5.0 g, 分别加入相当于样品中总多糖量的 80%、100%、120% 的对照品溶液, 每个浓度平行配制 3 份, 按 1.2.3.1 中方法制备, 显色后, 于 490 nm 处测定吸光度值, 并计算加样回收率及 RSD 值。

1.2.4 DPPH-UHPLC-MS 法筛选黄芪中的抗氧化活性成分

1.2.4.1 色谱条件与质谱条件

色谱条件: 色谱柱: Phenomenex Kinetex C_{18} 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μ m); 流动相 A 为 0.1% 甲酸乙腈, 流动相 B 为 0.1% 甲酸水; 梯度洗脱程序为 (0.01 ~ 1 min, 20% ~ 30% A; 1 ~ 7 min, 30% ~ 50% A; 7 ~ 10 min, 50% ~ 70% A; 10 ~ 15 min, 70% ~ 100% A; 15 ~ 17 min, 100% A); 流速设置为 0.3 mL/min; 进样量为 2 μ L。

质谱条件: 离子喷雾电压设置为 4.5 kV; 离子源温度设置为 500 °C; 去簇电压 (DP) 设置为 -100; 碰撞能量 (CE) 设置为 -10; 氮气为雾化气和辅助气, 雾化气 0.345 MPa, 辅助气 0.345 MPa, 气

帘气 0.241 MPa; 质量范围为 m/z 100 ~ 1 200; ESI 负离子模式下进行全扫描, 积累时间为 150 ms; 自动校准系统 (CDS) 对 MS 自动进行调谐和校正。

1.2.4.2 DPPH 溶液配制

分别配制 4.00、1.33、0.44、0.15、0.05 mmol/L 的 DPPH 溶液, 现用现配, 避光保存。

1.2.4.3 DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 实验

实验组为 0.3 mL 的供试样品溶液与 0.9 mL 的各浓度 DPPH 溶液混合均匀, 37 °C 下避光孵育 30 min。阴性对照组为 0.9 mL 的乙醇溶液代替 DPPH, 其他条件相同。孵育结束后, 将各反应溶液在 14 000 r/min 离心 10 min。吸取上清液进 UHPLC-QTOF-MS/MS 分析。利用标准品比对, 指认了 DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 实验中的 9 个化合物。采用峰面积法计算不同浓度的 DPPH 对该 9 个化合物峰面积的影响。

1.2.5 单体成分的抗氧化活性

1.2.5.1 DPPH 实验

取标准品适量, 用乙醇配制成 1.000、0.500、0.250、0.125、0.625 mg/mL 的系列样品溶液。将 DPPH 配制成 200 μ mol/L 的乙醇溶液, 然后加入 50 μ L 上述配制样品溶液和 150 μ L 的 DPPH 溶液于酶标板中, 混匀后置阴暗处反应 30 min, 然后用酶标仪在 517 nm 处测定吸收值。每份样品平行操作 3 次, 取平均值。用乙醇溶液代替样品溶液配制阴性对照, 用乙醇代替上述方法中的 DPPH 配制空白对照, 计算出清除率。并运用 SPSS 软件计算样品的 IC_{50} 。

1.2.5.2 ABTS 实验

将 ABTS 及 $K_2S_2O_8$ 分别配制成 7、2.45 mmol/L 的水溶液, 使用前将两者混合并在暗处放置 12 h 以上, 使用时用水稀释使混合溶液的吸光度值在 734 nm 处为 0.7 ~ 0.8, 待用。取 40 μ L 的 1.2.5.1 样品溶液和 160 μ L ABTS 自由基工作液于酶标板中, 混匀后反应 15 min 后测定吸光度 A 值。每份样品平行测定 3 次, 取平均值, 用乙醇-水溶液代替样品溶液配制阴性对照, 用水代替上述方法中的 ABTS 自由基工作液配制空白对照, 计算出清除率。并运用 SPSS 软件计算样品的 IC_{50} 。

2 结果与讨论

2.1 总皂苷、总黄酮和总多糖的含量

总皂苷、总黄酮和总多糖的标准曲线回归方程分别为 $Y_1 = 0.841 6X + 0.074 7$, $r^2 = 0.996 7$,

$Y_2 = 3.0211X + 0.0176$, $r^2 = 0.9984$, $Y_3 = 2.342X + 0.0872$, $r^2 = 0.9990$, 结果表明线性良好。24 批药材的总皂苷、总黄酮、总多糖含量如表 2 所示, 其方法学结果如表 3 所示。结果显示, 上述 3 种成分的含量测定的重复性、稳定性及加样回收率良好。

表 2 总皂苷、总黄酮、总多糖含量

Tab.2 Contents of total saponins, total flavonoids and total polysaccharides (mg/g)

编号	总皂苷	总黄酮	总多糖
1	24.99	0.41	182.30
2	28.75	0.37	174.62
3	30.59	0.36	131.98
4	39.93	0.42	260.91
5	40.14	0.35	196.95
6	26.99	0.43	163.47
7	18.52	0.58	140.52
8	26.05	0.31	155.59
9	32.80	0.36	179.23
10	28.36	0.37	168.62
11	40.59	0.34	195.67
12	29.50	0.36	174.62
13	31.26	0.42	268.13
14	16.82	0.26	48.53
15	14.32	0.27	31.30
16	29.74	0.66	215.54
17	15.54	0.20	157.24
18	21.00	0.18	131.26
19	14.67	0.26	44.00
20	13.55	0.25	21.75
21	15.28	0.14	66.44
22	17.86	0.33	106.17
23	23.52	0.40	132.56
24	25.04	0.35	204.82
23	23.52	0.40	132.56
24	25.04	0.35	204.82

表 3 总皂苷、总黄酮、总多糖含量测定的方法学结果

Tab.3 Methodological results of the content determination of total saponins, total flavonoids and total polysaccharides

	精密度/%	稳定性/%	回收率/%
总皂苷	0.63	3.90	98.4~104.7
总黄酮	0.58	2.88	95.3~104.2
总多糖	0.74	3.25	95.7~104.8

本研究检测样品中, 内蒙古赤峰地区一年的膜荚黄芪的皂苷含量最高, 内蒙古武川地区一年的膜荚黄芪的多糖含量最高, 黑龙江大兴安岭地区的野生膜荚黄芪的黄酮含量最高。将黄芪样品

分为膜荚黄芪和蒙古黄芪两组, 采用 SPSS 23.0 软件对蒙古黄芪和膜荚黄芪中的总皂苷、总黄酮和总多糖的含量进行单因素方差分析, 以比较组间差异。两组间 P 值分别为 0.074、0.061、0.155, 均大于 0.05, 即两种黄芪之间各成分含量不存在显著性差异, 说明所选择的 24 批膜荚黄芪和蒙古黄芪对黄芪总皂苷、总黄酮和总多糖含量不存在明显影响。大兴安岭地区 4 年及 4 年以上的膜荚黄芪的总皂苷、总黄酮和总多糖的含量都较低, 推测可能由于生长年限较长, 黄芪中的主要成分发生了变化。将讷河地区和梅里斯地区一年的膜荚黄芪的根, 与其他地区一年的黄芪根相比, 发现其根极细, 可能与其生存土壤、环境及采摘时间等有关; 而含量测定结果表明其总皂苷、总黄酮和总多糖的含量也较其他地区的黄芪含量低。野生的蒙古黄芪和膜荚黄芪的黄酮含量高于人工栽培的黄芪黄酮含量, 推测野生状态可能更利于黄芪黄酮类成分的富集。在预实验中, 分别采用热提法和超声法对总皂苷、总黄酮和总多糖进行提取。结果显示两种提取方式对提取量的影响不大, 而超声提取法操作简便且平行性好, 因此, 采用超声提取法对各批次的黄芪药材进行提取。

2.2 黄芪中抗氧化活性成分的筛选

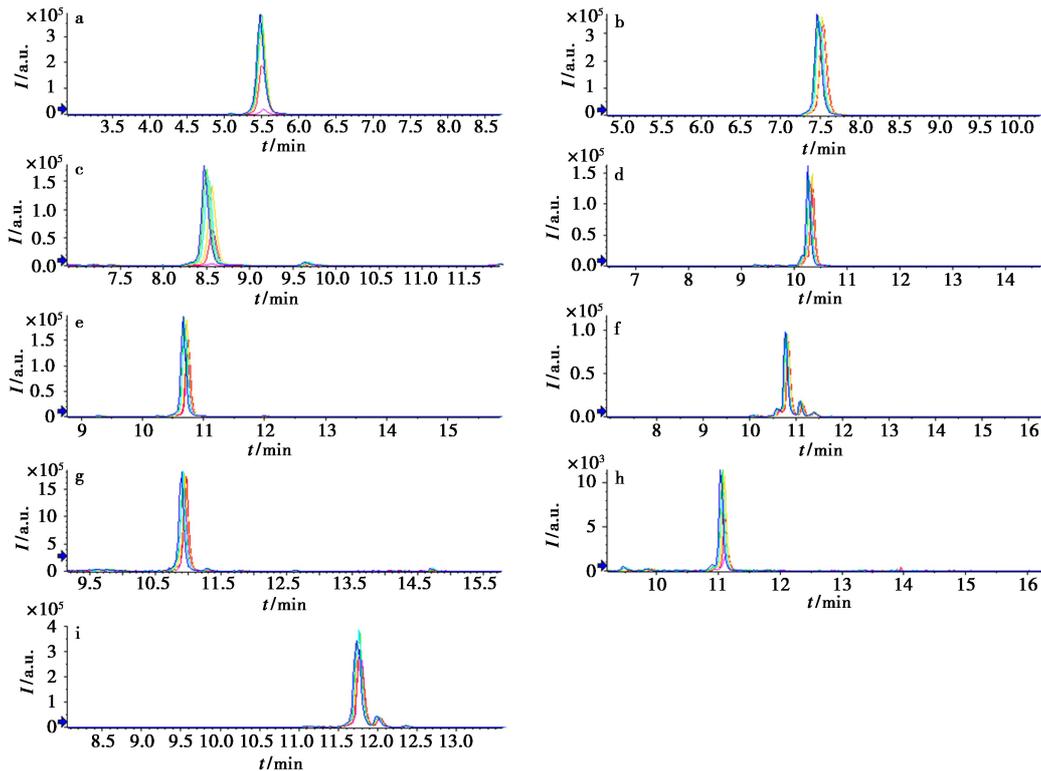
本实验选择液相色谱串联四级杆飞行时间质谱仪进行检测分析, 采用正离子和负离子模式进行扫描, 结果显示黄酮类化合物和皂苷类化合物在负离子模式下都有较好的响应值。因此, DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 实验采用了负离子模式。皂苷类化合物和黄酮苷类化合物有较强的 $[M+COOH]^-$ 峰, 而黄酮苷元有较强的 $[M-H]^-$ 峰, 因此, 其定量离子峰分别选择了其响应值较高的离子峰。结果证明提取物中关键成分的含量变化能够说明其抗氧化活性。此方法的优势在于操作简单, 柱前衍生化后可以批量的检测各成分的抗氧化活性。在以后的研究中不仅能够对有标准品的化合物进行抗氧化活性的测试, 也可以通过化合物质谱数据对化合物结构进行解析, 然后通过峰面积的变化预测其抗氧化活性。上述研究可以为今后活性成分的导向分离及活性研究提供指导。

多糖的极性较大, 在多糖提取时选择了水溶液进行提取。在预实验中, 分别考察了不同溶剂对皂苷和黄酮提取量的影响, 结果发现 75% 乙醇对总皂苷和总黄酮都有着较好的提取率, 因此, 在

总皂苷和总黄酮测试过程中, 选择了 75% 乙醇进行提取。预实验中利用 DPPH 实验对黄芪 75% 乙醇提取物和黄芪水提物的抗氧化活性进行了测试, 结果显示黄芪 75% 乙醇提取物的抗氧化活性较强。为了进一步考察多糖的抗氧化活性, 预实验中采用了水提醇沉法对多糖成分进行了纯化并测试了抗氧化活性, 结果表明多糖类成分活性较弱, 因此, 选择 75% 乙醇提取物进行 DPPH-UH-

PLC-QTOF-MS/MS 实验。

由于黄芪样品批次较多, 为研究其抗氧化活性, 选择依安二年的膜荚黄芪作为代表探讨了黄芪的抗氧化活性。利用标准品比对, 指认了 DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 实验中的 9 个化合物。采用峰面积法计算不同浓度的 DPPH 对该 9 个化合物峰面积的影响。各化合物的 XIC 图见图 1, 峰面积减少量见表 4。由此可见, 化合物毛蕊异



曲线分别为 0.05、0.15、0.44、1.33、4.00 mmol/L DPPH 组和阴性对照组
a. 毛蕊异黄酮苷; b. 芒柄花苷; c. 毛蕊异黄酮; d. 黄芪甲苷; e. 刺芒柄花素; f. 黄芪皂苷 II;
g. 3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷; h. 7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮; i. 黄芪皂苷 I

图 1 XIC 图

Fig.1 XIC chromatograms

表 4 各化合物的峰面积减少量^注

Tab.4 Peak area reduction of each compound

化合物	保留时间/ min	定量离子峰	定量分子量范围	DPPH 组 (mmol/L) 峰面积减少量/%				
				4.00	1.33	0.44	0.15	0.05
毛蕊异黄酮苷	5.48	[M+COOH] ⁻	491.109 0~491.129 0	95.3	48.1	8.4	—	—
芒柄花苷	7.47	[M+COOH] ⁻	475.114 0~475.134 0	7.4	2.3	1.5	—	—
毛蕊异黄酮	8.48	[M-H] ⁻	283.050 7~283.070 7	99.9	61.8	13.7	0.1	—
黄芪甲苷	10.15	[M+COOH] ⁻	829.448 6~829.468 6	12.5	7.2	4.1	0.3	—
刺芒柄花素	10.67	[M-H] ⁻	267.055 7~267.075 7	39.0	23.8	8.3	2.8	2.5
黄芪皂苷 II	10.77	[M+COOH] ⁻	871.459 1~871.479 1	14.6	3.6	—	—	—
3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷	10.89	[M-H] ⁻	299.082 0~299.102 0	32.7	1.7	—	—	—
7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮	11.04	[M-H] ⁻	301.097 6~301.117 6	83.7	44.8	8.5	8.1	3.8
黄芪皂苷 I	11.75	[M+COOH] ⁻	913.469 7~913.489 7	18.2	16.2	8.9	—	—

注: “—” 为峰面积未减少。

黄酮、毛蕊异黄酮苷和 7,2'-二羟基 3',4'-二甲基氧异黄烷在 DPPH 浓度为 4.00 mmol/L 时峰面积减少明显,推测这 3 个化合物可能是黄芪中抗氧化的主要活性成分。

上述结果显示,筛选的 9 个化合物的峰面积都随着 DPPH 浓度的增加,其峰面积减小,说明该 9 个化合物都有一定的抗氧化活性,且黄酮类化合物的抗氧化活性优于皂苷类成分。其中,化合物毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷和 7,2'-二羟基-3',4'-二甲基氧异黄烷在 DPPH 浓度为 4.00 mmol/L 时峰面积减少明显,推测它们的抗氧化活性较强。

2.3 单体化合物的抗氧化活性验证

分别利用 DPPH 法及 ABTS 法测试单体化合物的抗氧化活性并运用 SPSS 软件计算样品的 IC_{50} (表 5)。

表 5 单体化合物的抗氧化活性

Tab.5 Antioxidant activities of monomer compounds ($n=3$)

化合物名称	DPPH	ABTS
	$IC_{50}/(mg \cdot mL^{-1})$	
毛蕊异黄酮苷	0.537	0.026
芒柄花苷	>100	>100
毛蕊异黄酮	0.195	0.015
黄芪甲苷	>100	>100
刺芒柄花素	>100	>100
黄芪皂苷 II	>100	>100
3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷	>100	0.536
7,2'-二羟基-3',4'-二甲基氧异黄烷	1.221	0.008
黄芪皂苷 I	>100	>100
L-抗坏血酸	0.018	0.025

单体化合物抗氧化结果与 DPPH-UHPLC-MS 法预测的抗氧化活性结果相一致。对黄酮类成分的抗氧化活性进行构效关系探讨,将毛蕊异黄酮苷与芒柄花苷及毛蕊异黄酮与刺芒柄花素的峰面积减少量比较,推测黄酮连接的羟基越多,其抗氧化活性越强。将毛蕊异黄酮苷与毛蕊异黄酮及芒柄花苷与刺芒柄花素的峰面积减少量比较,推测黄酮的羟基成苷后,黄酮的抗氧化活性减小。

3 结论

本研究对不同产地、年份、品种的黄芪总黄酮、总皂苷、总多糖的含量进行了测试,并利用 DPPH-UHPLC-QTOF-MS/MS 对黄芪抗氧化活性物质基础进行了探讨,并进行了构效关系的探讨。

本研究产出为今后黄芪研究提供了实验基础,同时为合理利用黄芪资源及建立黄芪类农产品品牌资源提升提供理论依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典[M].一部.北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] 马艳春,胡建辉,吴文轩,等.黄芪化学成分及药理作用研究进展[J].中医学报,2022,50(4):92-95.
- [3] 张淑娟,张育贵,牛江涛,等.黄芪的研究进展及其质量标志物预测分析[J].中华中医药学刊,2022,40(2):151-155.
- [4] 郭丽丽,李小兰,田小丽,等.黄芪茎叶总皂苷的响应面提取工艺优化及抗氧化活性研究[J].中国食品添加剂,2023,34(4):158-167.
- [5] 肖亦菽,王如锋,赵淑娟.中药黄芪皂苷类成分生物合成研究进展[J].上海中医药大学学报,2021,35(5):80-96.
- [6] 赵灵改,吕学泽,刘毅,等.黄芪中皂苷类成分的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(12):4937-4946.
- [7] ZHANG J, WU C, GAO L, et al. Astragaloside IV derived from Astragalus membranaceus: A research review on the pharmacological effects [J]. *Adv. Pharmacol.*, 2020, 87: 89-112.
- [8] 徐铭,吴晓俊.黄芪皂苷对神经系统疾病的药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2021,46(18):4674-4682.
- [9] ZANG Y, WAN J, ZHANG Z, et al. An updated role of astragaloside IV in heart failure [J]. *Biomed. Pharmacother.*, 2020, 126: 110-112.
- [10] 张东霞.黄芪中黄酮类化合物药理作用研究进展[J].内蒙古中医药,2021,40(2):148-149.
- [11] 苏优拉,陈贵林.黄芪中黄酮类成分的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(3):849-857.
- [12] WANG Z, LI X L, HONG K F, et al. Total flavonoids of astragalus ameliorated bile acid metabolism dysfunction in diabetes mellitus [J]. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2021, 2021: 6675-6677.
- [13] 蔚立涛,赵秉宏,周劭华,等.蒙古黄芪总黄酮对 ADHD 模型大鼠前额叶 BDNF 和 TRKB 的影响[J].中药材,2021,44(8):1967-1970.
- [14] AN L, LIN Y, LI L, et al. Integrating network pharmacology and experimental validation to investigate the effects and mechanism of astragalus flavonoids against hepatic fibrosis [J]. *Front. Pharmacol.*, 2021, 11: 618-626.

- [15] 吴冬雪,王淑敏,陈思键,等.无机纳米孔材料快速分离中成药中黄芪皂苷类成分[J].分析试验室,2021,40(6):638-644.
- [16] 张臻,阙华发.黄芪多糖对糖尿病溃疡大鼠炎症期相关因素的影响[J].中药新药与临床药理,2022,33(5):616-623.
- [17] LI C X, LIU Y, ZHANG Y Z, et al. Astragalus polysaccharide: A review of its immunomodulatory effect [J]. *Arch. Pharm. Res.*, 2022, 45(6):367-389.
- [18] ZHENG Y, REN W, ZHANG L, et al. A review of the pharmacological action of astragalus polysaccharide [J]. *Front. Pharmacol.*, 2020, 11:349.
- [19] 张玉坤,何东平.黄芪多糖对野百合碱诱导大鼠肺动脉高压的减缓作用及其机制研究[J].中国药房,2022,33(1):64-68.
- [20] 张石在,王毅,马瑞莲,等.黄芪多糖抑制 TGF- β 1 和 Nox4/Akt/m TOR 信号通路保护心肌重构的作用研究[J].中国现代应用药学,2021,38(24):3 108-3 114.
- [21] 李波,李珺铭,刘富饶,等.朝鲜淫羊藿中性多糖与酸性多糖的理化特征及抗氧化活性的比较[J].化学试剂,2022,44(3):369-375.
- [22] 施树云,郭柯柯,彭胜,等.DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS 快速筛选和鉴定杜仲黑茶中抗氧化活性成分[J].天然产物研究与开发,2018,30(11):1 913-1 917.
- [23] 侯敏娜,侯少平,胡亚茹,等.黄芪总黄酮体外抗氧化性及抑菌活性的研究[J].华西药学杂志,2022,37(4):380-384.
- [24] 邓清平,侯光蕊.DPPH-HPLC-QTOF-MS/MS 快速筛选和鉴定臭牡丹中抗氧化活性成分[J].华中师范大学学报(自然科学版),2018,52(6):816-821.
- [25] 尹德航,施乐洋,叶雨涵,等.天然产物及其有效成分在化妆品领域的研究与开发[J].化学试剂,2022,44(7):960-967.
- [26] 朱家庆,冯军,唐婷范,等.加压毛细管电色谱测定葛根中三种异黄酮类化合物[J].分析试验室,2021,40(9):1 010-1 014.
- [27] 臧青民,李秋珊,徐燕波,等.超声波辅助双水相体系优化橘红花总黄酮提取工艺及其抗氧化活性[J].化学试剂,2022,44(4):557-563.

重铬酸钾滴定法测定水稻土中有机碳

刘春霞^{*1,2}, 于亚辉^{1,2}, 李艳华^{1,2}, 张芳^{1,2}, 袁润蕾^{1,2}, 申硕果^{1,2}, 吴娣^{1,2}

(1.河南省岩石矿物测试中心,河南 郑州 450012;

2.自然资源部贵金属分析与勘查技术重点实验室,河南 郑州 450012)

摘要:重铬酸钾滴定法是测定有机碳的经典方法,但将其应用于水稻土分析时,样品中的亚铁会对测定产生干扰。为了准确测定有机碳含量,满足快速批量分析的需求,采用风干或过氧化氢预处理后的试样,在恒温电板上以 0.4 mol/L 重铬酸钾-硫酸为氧化消解溶液,于 210~230 °C 消解 15~17 min 时,在 1 mol/L 硫酸介质中,以邻菲罗啉作为突变指示剂,硫酸亚铁标准溶液滴定,溶液由橙黄变为蓝绿,再变为棕红,建立了重铬酸钾滴定法测定水稻土中有机碳的方法。同时,探讨了试样中亚铁离子对有机碳测定产生正干扰的消除方法,试验发现:四氧化三铁的存在不会对有机碳的测定产生影响,硫化亚铁和可溶性亚铁离子可通过风干氧化或加入 1 mL 1% 过氧化氢预处理试样,达到干扰消除的目的;方法检出限为 0.06%,测定范围为 0.21%~15%。将方法应用于不同性质国家标准物质(土壤、水系沉积物)中有机碳的测定,结果与标准值的相对误差(RE)为-3.15%~+1.15%,相对标准偏差(RSD, $n=12$)为 0.80%~4.41%。

关键词:重铬酸钾滴定法;有机碳;亚铁离子;干扰及消除;水稻土

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0098-06

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0536

Determination of Organic Carbon in Rice Soil by Potassium Dichromate Titration Method LIU Chun-xia^{*1,2}, YU Ya-hui^{1,2}, LI Yan-hua^{1,2}, ZHANG Fang^{1,2}, RUAN Run-lei^{1,2}, SHEN Shuo-guo^{1,2}, WU Di^{1,2} (1. Henan Province Rock and Mineral Testing Center, Zhengzhou 450012, China; 2. Key Laboratory of Precious Metals Analysis and Exploration Technology, Ministry of Natural Resources, Zhengzhou 450012, China)

Abstract: The potassium dichromate volumetric method is a classic method for determining organic carbon, but when applied to the analysis of paddy soil, the ferrous content in the sample may interfere with the determination. In order to accurately determine the organic carbon content and meet the needs of rapid batch analysis, samples pretreated with air drying or hydrogen peroxide were used. 0.4 mol/L Potassium dichromate sulfuric acid was used as the oxidation digestion solution on a constant temperature electric heating plate. After digestion at 210~230 °C for 15~17 min, in 1 mol/L sulfuric acid medium, *o*-phenanthroline was used as the mutation indicator. The titration solution of ammonium ferrous sulfate standard solution changed from orange yellow to blue green, and then to brownish red. A potassium dichromate titration method has been established for the determination of organic carbon in paddy soil. At the same time, methods for eliminating the positive interference of ferrous ions in the sample on the determination of organic carbon were explored. The experiment found that the presence of ferric oxide does not affect the determination of organic carbon, ferrous sulfate, etc soluble ferrous ions can be eliminated by air drying oxidation or pre-treatment with 1 mL 1% hydrogen peroxide to eliminate measurement interference; The detection limit of the method is 0.06%, and the determination range is 0.21%~15%. The method was applied to the determination of organic carbon in different national standard substances (soil, river sediment) with different properties. The relative error (RE) between the results and the certified values was -3.15%~+1.15%, and the relative standard deviation (RSD, $n=12$) was 0.80%~4.41%.

Key words: potassium dichromate titration method; organic carbon; ferrous ion; interference and elimination; rice soil

2020 年国家启动了土壤污染调查项目,不断加强土壤检测、修复及治理,尤其对“五色土”之

一水稻土的及时监测高度重视。而有机碳分析方法的建立是保障监测工作顺利开展的必要条件。

收稿日期:2023-08-12;网络首发日期:2023-10-19

基金项目:国家重点研发计划项目(2019YFC1804805);豫地矿青科创项目([2020]9号)。

作者简介:刘春霞(1988-),女,河南郑州人,学士,工程师,主要从事岩石矿物样品、环境土壤及水质样品、地球化学样品中金属元素及无机化学指标的测试研究,E-mail:441603959@qq.com。

引用本文:刘春霞,于亚辉,李艳华,等.重铬酸钾滴定法测定水稻土中有机碳[J].化学试剂,2023,45(12):98-103。

有机碳经典的分析方法主要有干烧法(高温电炉灼烧)和湿烧法(重铬酸钾氧化)^[1,2]两大类。干烧法包括仪器测定法和非水滴定法^[3,4]。仪器测定法需要有特定的分析设备,目前主要采用 CHN 元素分析仪、ICP-AES、TOC 测定仪、高频红外碳硫仪等^[5-9]测定各类样品中的有机碳,但其前处理费时,且需处理残留酸以避免腐蚀仪器管路,仪器维修费用较高。重铬酸钾滴定法因具备操作简便、快速的特点,已作为国家标准分析方法推广应用至土壤、水系沉积物及岩石矿物的分析领域^[7,10-12]。但采用此方法测定地质试样尤其是水稻土中的有机碳时,试样中含有的亚铁离子会与重铬酸钾-硫酸反应,消耗溶剂产生正干扰,影响测定结果的准确性^[13-16]。早在 2015 年吴才武等^[17]和标准 HJ 615—2011^[2]中提出水稻土需要提前将试样风干 10~20 d,即可解决氧化亚铁离子对有机碳测定产生的干扰。但该方法操作时间长,且需要翻晒,耗费人力及时间,较为繁琐。另外,湿法消解试样用酸在加热的条件下溶解有机碳,传统湿法消解的加热设备主要有电炉、水浴、电沙浴等,消解效率和效果都不尽人如意,会造成试验结果的再现性和准确性偏差较大。而目前采用的微波消解法^[18-20],虽可实现绿色环保,但适用的普遍性不强。

本工作通过对恒温电热板消解温度及消解试样时间的优化试验,确定试样的最佳分解温度为(220±10)℃,消解时间 15 min,有效提高样品消解效率,降低了方法的检出限。同时,通过风干氧化或加入 1 mL 1%过氧化氢预处理试样,可消除硫酸亚铁等可溶性亚铁离子的干扰,建立了水稻土壤中有有机碳的分析方法。方法简单、快捷、经济、准确,检出限低、测定范围广,能够满足地球化学调查项目大通量试样的检测需求。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

BSA124S 型分析天平(感量 0.000 1 g,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);WBIE46-1 型恒温电热板(天津拓至明实验仪器技术开发有限公司);SX-4-10 型箱式电阻炉控制箱(天津市泰斯特仪器有限公司);磨口简易空气冷凝管(直径 0.9 cm,长 19 cm;配套磨口锥形瓶 150 mL);自动调零酸式滴定管(25、50.00 mL)。

K₂Cr₂O₇ 试剂(郑州派尼化学试剂厂);硫酸

(北京化工厂);邻菲罗啉指示剂(福晨(天津)化学试剂有限公司);Fe(NH₄)₂·(SO₄)₂·6H₂O(天津市恒兴化学试剂制造有限公司);SiO₂(西陇科学股份有限公司);AgSO₄(天津市华东试剂厂)K₂Cr₂O₇(基准,北京化学试剂研究所);标准物质(GBW07401(1.80±0.16%)、GBW07404(1.80±0.16%)、GBW07408(0.30%)、GBW07424(1.35±0.07%)、GBW07430(0.97±0.12%)、GBW07305(1.3%)、GBW07307(0.63%)、GBW07365(0.18±0.02%)、GBW07301a(0.73%))(中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所);试剂均为分析纯。

K₂Cr₂O₇ 标准溶液($C_{(1/6K_2Cr_2O_7)} = 0.200 0$ mol/L):称取 9.806 2 g 105℃烘干至恒重的 K₂Cr₂O₇,加水溶解定容至 1 L 容量瓶内;0.4 mol/L 重铬酸钾-硫酸溶液:称取 39.224 6 g K₂Cr₂O₇,溶于 1 L 蒸馏水中,分次缓慢加入 1 L 硫酸;Fe(NH₄)₂·(SO₄)₂·6H₂O 标准溶液:称 80 g Fe(NH₄)₂·(SO₄)₂·6H₂O 溶于 600~800 mL 水中,加 20 mL H₂SO₄,加水定容至 1 L,储于棕色瓶中保存,标定后备用;邻菲罗啉指示剂:称取 1.49 g 溶于含 0.7 g Fe(NH₄)₂·(SO₄)₂·6H₂O 的 100 mL 水溶液中保存于棕色瓶中备用。

1.2 实验方法

对于一般试样,称取适量试样于 150 mL 锥形瓶中,具体称样量详见表 1,精确至 0.000 1 g,准确加入 10.0 mL(0.4 mol/L)重铬酸钾-硫酸溶液及约 0.1 g 硫酸银,摇匀,安装磨口空气冷凝管,置于已升温至设置温度(220±10)℃的恒温电热板上加热,待电热板回升至设置温度,开始计时消解 15 min。取下冷却,用水冲洗冷凝管内壁及其连接处,使洗涤液流入原锥形瓶中,控制瓶内溶液总体积约为 60 mL,加 3~5 滴邻菲罗啉指示剂,用硫酸亚铁铵标准溶液进行滴定,溶液由橙黄变为蓝绿,再变为棕红,即达终点;如果待测溶液所耗硫酸亚铁铵标准溶液的毫升数低于空白溶液(采用高温灼烧过的二氧化硅作空白)所耗硫酸亚铁铵标准溶液毫升数的 1/3 时,则应减少试样称样量,重新消解滴定。

对于部分特殊试样如潮湿的水系沉积物或水稻土壤及一些长期渍水的土壤,若时间允许可选择自然风干 10~20 d,使亚铁充分氧化为三价铁后制备试样;或优先滴加 1 mL 1%过氧化氢前处理试样后,按照上述试验方法进行。

表 1 有机碳含量与称样量的关系

Tab.1 The relationship of sample mass and organic carbon content range

有机碳含量范围(w)/%	试样量/g
<2	0.400 0~0.500 0
2~7	0.200 0~0.300 0
7~15	0.100 0

2 结果与讨论

2.1 不同消解方式比对

选取不同性质的土壤国家一级有证标准物质 GBW07401、GBW07424、GBW07404、GBW07408,

分别采用油浴法、水浴法、电沙浴法、微波消解法、恒温电热板加热法对 4 种标准物质进行消解,以硫酸亚铁铵标准溶液对待测液进行滴定,分析结果与表标准值的相对标准偏差见表 2。结果表明:GBW07408 的相对标准偏差范围比较大,这可能和有机碳的含量低有关;采用恒温电热板加热法和微波消解法可极大的提高有机碳的氧化效率,测定结果与标准值偏差范围小。但微波消解法需特殊设备,而恒温电热板装置可在检测实验室实现普遍推广,且操作方便,适合大批量试样的分析测试。

表 2 不同消解方式测定有机碳比对

Tab.2 Different elimination methods determine organic carbon comparison

消解方式	消解温度和时间	优缺点	相对标准偏差(RSD)/%			
			GBW07401	GBW07424	GBW07404	GBW07408
油浴法	170~180 ℃,消解 5 min	高温油易气化,环保安全系数低,油温不易控,且操作不当易污染试样,后期处理器皿麻烦	2.43~3.92	2.52~3.35	2.30~3.85	2.62~5.29
水浴法	100 ℃,消解 30 min	温度低消解不完全,消解耗时长,氧化效率低,适合低温消解处理	-3.31~4.23	-3.51~4.63	2.25~3.92	-5.26~4.96
电沙浴法	200~230 ℃,消解 5 min	沙传导热升温慢,降温快,虽干净但受热不均匀消解效果差	-2.56~2.96	-3.56~3.29	1.92~3.52	-3.56~4.78
微波消解法	160~200 ℃先消解 4 min,升温 220 ℃再消解 20 min	环保且消解够完全,但需特殊设备,适合难消解完全试样	1.21~2.53	1.03~2.92	1.35~2.59	0.90~4.72
恒温电热板加热法	210~230 ℃,消解 15 min	普遍性强,分析时间短,数据再现性好,适合大批量试样分析	1.25~2.36	0.80~2.69	1.53~3.43	0.96~4.41

2.2 试样消解温度的确定

分别称取 0.500 0 g 土壤国家一级有证标准物质 GBW07401、GBW07424、GBW07404、GBW07408,分别设各 6 份于 150 mL 锥形瓶中,将恒温电热板的温度定为 170、180、200、220、230、240 ℃,按照试验方法消解滴定,测定有机碳含量的平均值见表 3,试验结果表明:消解温度低于 200 ℃时,由于消解不完全,消解液混浊不清,分析结果偏低;高于 230 ℃时,试样中部分还原性物质被氧化,分析结果与标准值相比偏高;当消解温度在 200~230 ℃

表 3 消解温度对有机碳结果的影响

Tab.3 Effect of Digestion Temperature on the Results of

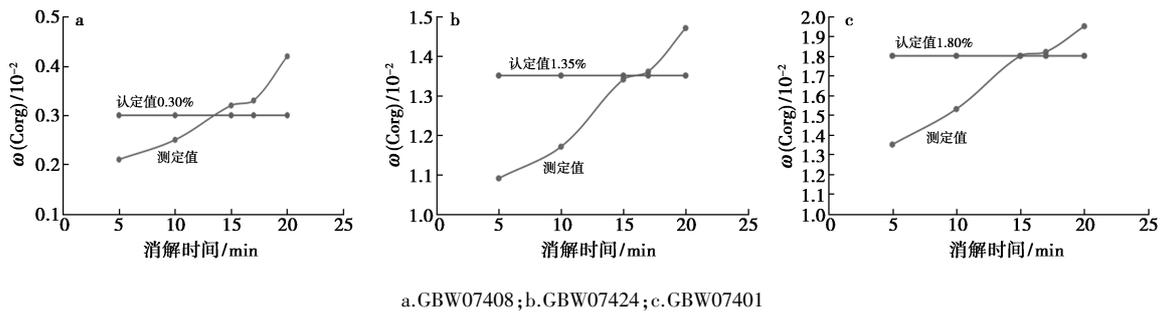
标样编号	标准值	Organic Carbon $w(\text{Corg})/10^{-2}$					
		170 ℃	180 ℃	200 ℃	220 ℃	230 ℃	240 ℃
GBW07401	1.80	1.72	1.76	1.80	1.82	1.80	1.82
GBW07424	1.35	1.28	1.30	1.31	1.35	1.35	1.38
GBW07404	0.62	0.54	0.57	0.59	0.60	0.62	0.64
GBW07408	0.30	0.26	0.29	0.29	0.30	0.31	0.32

时,消解液呈橙黄色且澄清,结果准确可靠。因此,选择试样的消解温度为(220±10)℃。

2.3 试样消解时间的选择

分别称取 0.500 0 g 土壤国家一级有证标准物质 GBW07408(标准值 0.30%)、GBW07424(标准值 1.35%)和 GBW07401(标准值 1.80%),选择 5、10、15、17、20 min 作为试样的消解时间(消解时间自试样放上电热板后第一滴馏出液滴下计时),按照试验方法进行消解试验。

由图 1 及试验现象可知:当消解时间为 5~10 min 时,由于消解时间太短,试样开始消解较慢,反应不完全导致测定结果偏低;当消解时间大于 17 min 时,试样中的其它还原性物质同样消耗重铬酸钾-硫酸溶剂,致使测定结果偏高;当消解时间为 15~17 min 时,试样消解完全,消解液呈橙黄色且较为清澈,分析结果和标准物质的标准值一致。因此,最终选择 15 min 作为最佳消解时间。



a.GBW07408;b.GBW07424;c.GBW07401
图 1 消解时间的选择

2.4 基体中亚铁离子干扰的消除

2.4.1 试样制备前消除亚铁试验

水稻土在排水不畅或长期淹渍的情况下,水稻土中的氧化铁及其水合物常被还原成易溶于水的氧化亚铁,进一步形成锈斑锈线对植物产生毒害。而亚铁含量较高($\geq 0.5\%$)的试样在消解过程中消耗重铬酸钾产生正干扰,一般情况下,将试样平摊成 2~3 cm 厚的薄层,自然风干、晾晒 10~20 d 后,使亚铁充分氧化为三价铁,再进行试样制备,可消除亚铁离子产生的干扰。选择亚铁含量较高的 3 个试样,分别称取 3 份,其中第一份不做任何处理,第二份自然风干晾晒 15 d(并同时测定亚铁含量),第三份采用干烧法进行比对,以此校正亚铁离子的干扰,所得结果见表 4。结果表明:采用自然风干晾晒的方式可消除亚铁离子干扰。

表 4 风干消除亚铁试验

Tab.4 Air drying to eliminate ferrous metal test

试样编号	$w(\text{Corg})/10^{-2}$			
	直接测定值	风干后测定值	风干前亚铁测定值	干烧法测定值
1	2.82	2.53	1.01	2.56
2	1.09	0.82	0.56	0.81
3	1.83	1.51	1.35	1.53

2.4.2 加入过氧化氢消除亚铁试验

因试样风干需要较长时间,加之会影响含水率及干物质等项目的测定,从而影响测定结果的时效性及准确性。选择 4 个含有亚铁的国家一级标准物质,准确称取 0.5~1.0 g,分别加入 5 mL 不同浓度的过氧化氢溶液和浓度 1% 的不同体积的过氧化氢溶液进行试样的预处理试验,分析结果见图 2、3。

由图 2 可知,固定过氧化氢的加入量为 5 mL,有机碳的测定值随过氧化氢的浓度增大有降低趋

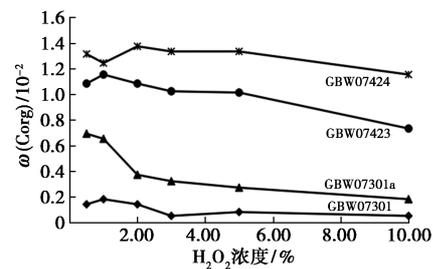


图 2 不同过氧化氢浓度消除亚铁试验
Fig.2 Different peroxide concentration eliminates the sub-iron test

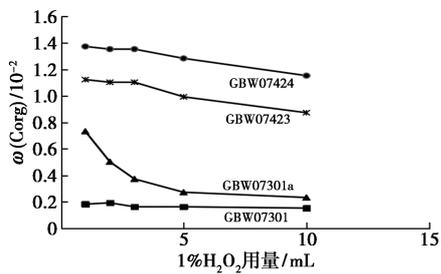


图 3 过氧化氢用量消除亚铁试验
Fig.3 Dosage of hydrogen peroxide eliminating the sub-iron test

势,尤其当过氧化氢浓度达到 10% 时,测定值降低更加严重。过量的过氧化氢同样能氧化试样中有机碳,低温烘干挥发后对测定结果产生负影响。选择过氧化氢浓度为 1% 时,有机碳测定结果与标准值基本相符。

由图 3 可知,固定过氧化氢浓度为 1%,有机碳的测定值随过氧化氢的用量增大有降低趋势,尤其当过氧化氢用量达到 2 mL 以上时,GBW07301a 的测定值急剧下降,由此可见,过氧化氢用量对不同性质试样消除干扰的效果不尽相同。按照表 5 加入不同种类的亚铁试剂,采用 1 mL 1% 的过氧化氢进行比对试验,试验表明:对部分试样来说,四氧化三铁的存在对有机碳的测定影响较小,且四氧化三铁对有机碳测定的影响

表 5 过氧化氢消除不同种类亚铁试验

Tab.5 Hydrogen peroxide eliminates different types of ferrous tests $w(\text{Corg})/10^{-2}$

标样编号	标准值	消除硫酸亚铁((0.3+0.05)g 试样)		消除硫化亚铁((0.3+0.05)g 试样)		消除四氧化三铁((0.3+0.05)g 试样)	
		直接测定值	加 1 mL 1%过氧化氢	直接测定值	加 1 mL 1%过氧化氢	直接测定值	加 1 mL 1%过氧化氢
GBW07301a	0.73	1.07	0.74	1.12	1.05	1.06	1.05
GBW07423	1.10	1.22	1.09	1.28	1.25	1.18	1.15
GBW07301	0.18	0.35	0.17	0.74	0.71	0.20	0.20
GBW07424	1.35	1.49	1.20	溶液绿色	溶液绿色	1.39	1.38

无法通过加入过氧化氢来消除。过氧化氢对试样中硫酸亚铁等可溶性亚铁具有消除作用,对不溶性硫化亚铁基本无消除作用。

试验选择含有可溶性亚铁的土壤和水系沉积物标准物质,加入 1 mL 1%的过氧化氢按照试验方法进行比对试验,结果见表 6。由于亚铁离子在空气中即可被氧化,因此,与有机碳相比,具有更强的还原性,当加入氧化剂过氧化氢时,亚铁离子优先参与氧化还原反应。由试验数据可知:加入 1 mL 1%过氧化氢的测定结果与标准值无显著性差异,能够保证在有机碳不被氧化的前提下,有效消除可溶性亚铁的影响。

表 6 过氧化氢消除可溶亚铁试验

Tab.6 Hydrogen peroxide elimination soluble ferrous test $w(\text{Corg})/10^{-2}$

标样编号	直接测定值	加 H ₂ O ₂ 后测定值	有机碳标准值	亚铁标准值
GBW07301a	0.86	0.73	0.73	2.40
GBW07423	1.23	1.09	1.10	1.52
GBW07424	1.38	1.33	1.35	1.10
GBW07301	0.23	0.17	0.18	2.26

上述干扰试验可知,通过加入过氧化氢预处理试样能有效消除可溶性亚铁的影响,但若场地时间等条件许可,可将试样摊薄自然风干,不仅经济方便,而且在风干、晾晒过程中,试样中不溶性硫化亚铁可氧化为三氧化二铁从而消除亚铁离子干扰。

2.5 检出限与测定限

选择有机碳含量较低的国家一级标准物质 GBW07365(0.18%)按照试验方法分别进行 20 次测定,按照滴定管产生的最小体积 0.05 mL 计算标准偏差为 0.021%,以 3 倍标准偏差计算方法的检出限为 0.06%,10 倍标准偏差计算方法的定量限为 0.21%,测定范围为 0.21%~15%。

2.6 方法准确度

2.6.1 精密度、正确度试验

选择 8 个不同种类不同含量的国家一级标准物

质 GBW07401、GBW07404、GBW07408、GBW07424、GBW07430、GBW07305、GBW07307、GBW07365,按照试验方法分别进行 12 次测定,计算其平均值与标准值之间的相对误差(RE)来衡量方法的准确度,计算每个标准物质 12 次平行测定的相对标准偏差(RSD)来衡量方法的精密性,相对标准偏差(RSD)为 0.80%~4.41%,准确度(RE)为 -3.15%~+1.15%, $\Delta\lg C$ 为 -0.069~0.0248,满足地球化学调查试样的分析要求。

2.6.2 不同方法比对试验验证

选择不同含量水平的 5 个实际试样,分别采用本法的重铬酸钾滴定法、环境标准重铬酸钾比色法、高频红外碳硫仪差减法地质标准干烧法进行有机碳的测定,结果见表 7。

表 7 不同测定方法结果比对

Tab.7 Comparison of results of different methods

$w(\text{Corg})/10^{-2}$

试样编号	重铬酸钾滴定法	重铬酸钾比色法	高频红外碳硫仪差减法
1	0.27	0.26	0.28
2	0.51	0.49	0.53
3	0.96	0.94	0.98
4	1.32	1.34	1.31
5	2.13	2.15	2.16

从表 7 可见,本法重铬酸钾滴定法、环境标准重铬酸钾比色法、地质标准干烧法测定结果无显著性差异,可比性较好,说明建立的重铬酸钾滴定法测定有机碳是准确可靠的。

3 结论

有机碳分析是土壤及环境监测工作的重要指标,本工作采用重铬酸钾滴定法测定水稻土中有机碳含量,并讨论了消解温度、方式和时间及过氧化氢消除亚铁干扰方法等重要条件。本方法具有较强的实用性及可操作性,对测定地质样品中有机碳具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] 岩石矿物分析编委会. 岩石矿物分析. 第 2 分册[M]. 第 4 版. 北京: 地质出版社, 2011.
- [2] 环境保护部科技标准司. HJ 615—2011. 1-4 土壤有机碳的测定重铬酸钾氧化-分光光度法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2011.
- [3] 欧阳泉根, 李晓燕, 白静梅, 等. 盐酸预处理-高频燃烧红外吸收法测定含铀岩石中有机碳[J]. 冶金分析, 2020, **40**(2): 18-23.
- [4] 代建强, 姚永生, 张亚增. 重铬酸钾氧化-非水滴定法测定石墨矿中固定碳[J]. 冶金分析, 2015, **35**(12): 23-27.
- [5] 邱灵佳, 黄国林, 苏玉, 等. 总有机碳测定方法研究进展[J]. 广东化工, 2015, **42**(9): 107-108.
- [6] 邱灵佳, 黄国林, 帅琴, 等. 灼烧法中有机质与总有机碳换算关系的重建及其在页岩分析中的应用[J]. 岩矿测试, 2015, **34**(2): 218-223.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 19145—2003 沉积岩中总有机碳的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [8] 杨元, 高岭, 谯斌宗. ICP-AES 法测定废水中总有机碳含量的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, **20**(10): 2 422-2 423.
- [9] 刘攀, 唐伟, 张斌彬, 等. 高频感应燃烧-红外吸收光谱法在测定无机非金属试样中碳、硫的应用[J]. 理化检验-化学分册, 2016, **52**(4): 487-496.
- [10] 韩天祯, 吴卓智, 吴银笑, 等. 石墨电热消解-重铬酸钾法测定沉积物中的有机质[J]. 环境科学与管理, 2002, **39**(1): 132-138.
- [11] 刘昌岭, 朱志刚, 贺行良, 等. 重铬酸钾氧化-硫酸亚铁滴定法快速测定海洋沉积物中有机碳[J]. 岩矿测试, 2007, **3**(26): 205-208.
- [12] 盛浩, 宋迪思, 王翠红, 等. 土壤溶解性有机碳四种测定方法的对比和转换[J]. 土壤, 2015, **47**(6): 1 049-1 053.
- [13] 唐伟祥, 孟凡乔, 张煜, 等. 不同土壤有机碳测定方法的比较[J]. 土壤, 2018, **50**(3): 552-557.
- [14] 李国傲, 陈雪, 孙建伶, 等. 土壤有机质测定方法评述及最新研究进展[J]. 江苏农业科学, 2017, **45**(5): 22-26.
- [15] 赵起越, 夏夜, 邹本东. 土壤中有机氯农药的前处理方法[J]. 分析试验室, 2022, **41**(10): 1 234-1 240.
- [16] 李兴, 李松筠, 夏巧玲, 等. 矿物岩石有机碳、总碳电导测定法[C]. 中国地质科学院矿床地质研究所文集, 1989, **22**: 184-192.
- [17] 吴才武, 夏建新, 段峥嵘. 土壤有机质测定方法述评与展望[J]. 土壤, 2015, **47**(3): 453-460.
- [18] 宋兴, 解锡超, 屠文涛, 等. 高压密闭消解-电感耦合等离子体质谱法测定煤中锂[J]. 化学试剂, 2021, **43**(12): 1 707-1 710.
- [19] 邵敏. 不同消解方法测定土壤有机碳含量[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2009, **11**(1): 36.
- [20] 卢晓华, 薄梦, 吴雪, 等. 标准物质领域发展现状及趋势[J]. 化学试剂, 2022, **44**(10): 1 403-1 410.

标准物质与标准品

电解质分析仪用标准物质原料纯度定值研究

罗婷婷¹, 张鹏辉¹, 张惠¹, 袁娇阳¹, 司升玲¹, 张蒙¹, 杨嘉伟^{*2}

(1. 四川中测标物科技有限公司, 四川 成都 610052; 2. 中国测试技术研究院, 四川 成都 610021)

摘要:对制备电解质分析仪用溶液标准物质的 3 种高纯试剂原料无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙的纯度进行定值研究。采用经检定/校准后的电感耦合等离子体质谱仪、电感耦合等离子体发射光谱仪、氧氮氢分析仪、碳硫分析仪、离子色谱仪对原料中所包含的无机杂质进行测定, 采用干燥减量法对原料中所含的挥发性组分与水分含量进行测定, 最后采用杂质扣除法对 3 种高纯试剂原料的纯度进行定值, 通过对每种分析方法引入的不确定度进行分析评定, 得到原料纯度的不确定度评定结果, 取包含因子 $k=2$, 置信概率为 95%, 无水醋酸钠的纯度为 $(99.956 \pm 0.038)\%$ 、氯化锂的纯度为 $(99.933 \pm 0.054)\%$ 、氯化钙的纯度为 $(99.941 \pm 0.048)\%$, 以上纯度定值结果可用于电解质分析仪用溶液标准物质及相关试剂溶液的制备。

关键词:电解质分析仪; 杂质扣除法; 纯度分析; 不确定度; 标准物质

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)12-0104-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0436

Study on Certification of Purity in Reference Materials used for Electrolyte Analyzers LUO Ting-ting¹, ZHANG Peng-hui¹, ZHANG Hui¹, YUAN Jiao-yang¹, SI Sheng-ling¹, ZHANG Meng¹, YANG Jia-wei^{*2} (1. Sichuan Zhongce RM Co., Ltd., Chengdu 610052, China; 2. National Institute of Measurement and Testing Technology, Chengdu 610021, China)

Abstract: The purity of anhydrous sodium acetate, lithium chloride, and calcium chloride in solution reference for the electrolyte analyzer was determined. The certified/calibrated inductively coupled plasma mass spectrometer, inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, oxygen nitrogen hydrogen analyzer, carbon sulfur analyzer, and ion chromatograph were used to determine the inorganic impurities, and the drying decrement method was used to determine volatile components and water content in raw materials. Finally, the impurity deduction method was used to determine the purity of three high-purity reagents. The uncertainty evaluation results of the purity of raw materials were obtained by evaluating the uncertainty of each analysis method. The inclusion factor $k=2$, the confidence probability was 95%, the purity of anhydrous sodium acetate was $(99.956 \pm 0.038)\%$, the purity of lithium chloride was $(99.933 \pm 0.054)\%$, and the purity of calcium chloride was $(99.941 \pm 0.048)\%$. The above purity calibration results can be directly used for the preparation of solution references for electrolyte analyzer and related reagent solutions.

Key words: electrolyte analyzer; deduction impurity method; purity analysis; uncertainty; reference material

标准物质是具有一个或多个足够均匀特性值的物质或材料^[1], 作为分析测量行业中的“量具”, 在校准仪器装置、评价分析方法、测量物质或材料特性量值、考核分析人员的操作技术水平, 以及生产过程中产品的质量控制等领域起着不可或缺的作用^[2-8]。在实际生产中许多溶液标准物质的原料是高纯试剂, 准确可靠的原料纯度值是保证所生产溶液标准物质质量值准确的基础, 因此在标准物质研制中使用高纯试剂作原料时需对高纯试剂的纯度进行定值测定。用于制备溶液标准物质的无机类高纯试剂很多纯度在 99.9% 以上, 很难直接对其主成分含量进行测试, 本文拟采用间接测量方法即杂质扣除法对试剂中的杂质含量分别进行测定, 再经计算扣除后可得到试剂主成

分的纯度值^[9,10]。

2021 年发布的检定规程 JJG 1051—2021《电解质分析仪》中更新了检定电解质分析仪用溶液标准物质, 其中制备电解质分析仪用溶液标准物质的关键原料无水碳酸钠、氯化锂和氯化钙在市场上均为高纯试剂, 为保证所制备的电解质分析仪用溶液标准物质特性量值的准确性, 需对以上

收稿日期: 2023-06-30; 网络首发日期: 2023-08-14

作者简介: 罗婷婷(1989-), 女, 四川广元人, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为标准物质制备方法及化学计量量值溯源体系。

通讯作者: 杨嘉伟, E-mail: 21001136@qq.com。

引用本文: 罗婷婷, 张鹏辉, 张惠, 等. 电解质分析仪用标准物质原料纯度定值研究[J]. 化学试剂, 2023, 45(12): 104-111。

3 种原料的纯度进行准确定值^[11]。为使原料中的杂质元素尽可能被测出,得到准确可靠的原料纯度值,本文采用了多种分析设备与测试方法对原料中的杂质进行了分析测试。

电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)和电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)具有一次进样同时检测多种元素、分析速度快、灵敏度高、选择性好、准确度高、线性范围广、化学干扰和基体干扰小等优点^[12,13]。ICP-MS 和 ICP-OES 既可以对高纯试剂中的未知杂质进行半定量分析,也可以对已知杂质进行定量分析。因此,本文先采用 ICP-MS 对原料中的未知杂质元素进行半定量分析,对含量高于检出限的杂质元素再采用 ICP-MS 和 ICP-OES 进行定量分析测定,采用元素分析仪如氧氮氢分析仪和碳硫分析仪对原料中的氧、氮、氢、碳、硫的含量进行测定,采用离子色谱仪对原料中所含的氟、氯、溴的含量进行检测,通过杂质扣除法得到每种原料的纯度值。最后,通过对测试原料纯度的每种分析方法引入的不确定度进行评定,得到原料纯度值的不确定度评定结果。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

ICPMS-2030LF 型电感耦合等离子体质谱仪、ICPE-9820 型电感耦合等离子体发射光谱仪(日本岛津公司);940 Professional IC Vario 型离子色谱仪(瑞士万通公司);TCH600 型氧氮氢分析仪、CS844 型高频红外碳硫分析仪(美国力可公司);XP205 型电子天平(瑞士梅特勒托利多公司)。

无水醋酸钠(99.995%,美国 Sigma-Aldrich 公司);氯化锂、氯化钙(99.99%,英国 Alfa Aesar 公司);GBW(E)082429 的 29 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r = 3\%$, $k = 2$)、GBW(E)082431 的 12 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r = 3\%$, $k = 2$)、GBW(E)082430 的 11 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r = 3\%$, $k = 2$)、GBW(E)082428 的 17 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r = 3\%$, $k = 2$)、GBW08700 磷单元素溶液标准物质(1 000 $\mu\text{g/g}$, $U_r = 0.3\%$, $k = 2$)、GBW08690 硅单元素溶液标准物质(100 $\mu\text{g/g}$, $U_r = 0.5\%$, $k = 2$)(中国计量科学研究院);GBW(E)020084~020089 钢中氧、氮成分分析标准物质(钢研纳克检测技术股份有限公司);GBW(E)020069~020071 钢中氢成分分析标准物质

(上海埃龙科技有限公司);GBW01146a 纯铁中低碳硫成分分析标准物质(国家钢铁材料测试中心);GBW(E)082043 水中钾离子成分分析标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)、GBW(E)082044 水中钠离子成分分析标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)、GBW(E)082045 水中钙离子成分分析标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)、GBW(E)082046 水中镁离子成分分析标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)、GBW(E)082047 水中氟离子成分分析标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)、GBW(E)082048 水中氯离子成分分析标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)、GBW(E)082684 水中溴离子溶液标准物质(1 000 mg/L, $U_r = 1\%$, $k = 2$)(四川中测标物科技有限公司);分析实验室一级水。

1.2 原料定性分析

钠离子、锂离子、钙离子定性原理:利用焰色反应对氯化钠、氯化锂和氯化钙进行定性分析, Na^+ 的焰色反应是黄色火焰, Li^+ 的焰色反应是紫红色火焰, Ca^{2+} 的焰色反应是砖红色火焰。

氯离子定性原理: Cl^- 和 Ag^+ 反应生成的白色沉淀,该白色沉淀不溶于稀硝酸。

醋酸根离子定性原理:采用傅里叶红外光谱仪(FT-IR)对无水醋酸钠试样进行定性分析,将测得试样的红外光谱图与 SDBS(Spectral Database for Organic Compounds)标准图谱进行对照,看特征吸收峰的位置和形状是否一致。

1.3 实验方法

原料初干燥:将原料氯化锂、氯化钙分别在(500±10)℃温度范围内灼烧 6 h,无水醋酸钠在(135±2)℃温度范围内干燥 4 h,然后移至硅胶干燥器内冷却至室温备用。

1.4 原料纯度定值分析

采用杂质扣除法对高纯试剂无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙的纯度进行分析^[12]。原料纯度则按下式进行计算:

$$P_M = (1 - P_{\text{inorganic}} - P_{\text{VOC, water}}) \times 100\% \quad (1)$$

式中: P_M 为原料纯度,%; $P_{\text{inorganic}}$ 为原料中无机元素的含量,%; $P_{\text{VOC, water}}$ 为原料中挥发性组分和水分含量,%。

1.4.1 无机元素杂质分析测定

1.4.1.1 无机杂质半定量分析

采用 ICP-MS 分别对制备的 1 000 mg/kg 的无水醋酸钠溶液、氯化锂溶液、氯化钙溶液中所含无机杂质进行半定量分析。

ICP-MS 半定量分析条件:载气为氩气;碰撞气:氦气;高频功率:1.2 kW;采样深度:5.0 mm;等离子体气体:8.0 L/min;辅助气:1.10 L/min;载气流速:0.70 L/min;雾室温度:5 °C;内标溶液:GBW(E) 130242 ICP-MS 仪器校准用溶液标准物质,Bi、In、Bi 为 10.0 μg/L。

1.4.1.2 无机杂质定量分析

采用 ICP-MS 和 ICP-OES 对原料无水醋酸钠、氯化锂和氯化钙中包含的主要无机元素杂质进行定量测试。

(1) ICP-MS 定量测定无机元素

ICP-MS 定量分析条件:载气:氩气;碰撞气:氦气;高频功率:1.2 kW;采样深度:5.0 mm;等离子体气体:8.0 L/min;辅助气:1.10 L/min;载气流速:0.70 L/min;雾室温度:5 °C。

将无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙分别溶解制备成质量浓度为 1 000 mg/kg 试样溶液,以 GBW(E)082429 的 29 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r=3\%$, $k=2$)、GBW(E)082431 的 12 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r=3\%$, $k=2$)、GBW(E)082430 的 11 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r=3\%$, $k=2$)和 GBW(E)082428 的 17 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg, $U_r=3\%$, $k=2$)为测量标准,将标准溶液分组稀释成合适的浓度梯度,用 ICP-MS 对试样溶液中的主要无机杂质进行准确定量测试。

(2) ICP-OES 定量测定无机元素杂质

ICP-OES 定量分析条件:载气为氩气;高频功率:1.2 kW;冷却水温度:20 °C;观测方向:轴向;观测位置:Low;等离子体气流量:10.0 mL/min;辅助气流量:0.6 mL/min;载气流量:0.7 mL/min;分光器温度:38 °C;CCD 温度:-15 °C;真空度:2.5 Pa。

将钾、钠、钙、镁、硅、磷元素溶液标准物质稀释至合适的浓度梯度,用 ICP-OES 对试样中上述 7 种杂质元素进行定量测试。

1.4.2 氧、氮、氢元素的测定

以 GBW(E)020084、GBW(E)020085、GBW(E)020088 钢中氧、氮成分分析标准物质和 GBW(E)020069、GBW(E)020071 钢中氢成分分析标准物质作为参考标准,采用氧氮氢分析仪对固体无水醋酸钠中的氮元素,氯化锂和氯化钙中的氧、氮、氢元素进行测试。

氧氮氢分析仪的测试条件:吹扫时间:25 s;

排气时间:30 s;分析时间:70 s;排气功率:5.0 kW;分析功率:4.5 kW。

1.4.3 碳、硫元素的测定

以 GBW01146a 纯铁中低碳硫成分分析标准物质为参考标准,采用碳硫分析仪对试剂无水醋酸钠中的硫元素含量进行测试,对氯化锂和氯化钙中的碳、硫元素含量进行测试。

碳硫分析仪的测试条件:使用前将坩埚置于 1 100 °C 马弗炉中灼烧 2 h,冷却后置于干燥器中备用;仪器吹扫时间:15 s;分析时间:40 s,炉功率:100%;助熔剂:0.5 g。

1.4.4 氟、氯、溴的测定

以 GBW(E)082047 水中氟离子成分分析标准物质、GBW(E)082048 水中氯离子成分分析标准物质、GBW(E)082684 水中溴离子溶液标准物质为参考标准物质,采用离子色谱仪对浓度为 50.0 μg/mL 的无水醋酸钠溶液中氟、氯、溴离子含量进行分析测定,对 50.0 μg/mL 的氯化锂和氯化钙溶液中的氟离子和溴离子进行分析测定。

离子色谱仪的测试条件:色谱柱:Metosep A5-150/4.0 (4.0 mm × 150 mm);流速 0.7 mL/min;柱温:35 °C;淋洗液:3.2 mmol/L 碳酸钠和 1.0 mmol/L 碳酸氢钠;进样量:20 μL。

1.4.5 挥发性组分与水分含量分析

采用干燥减量法对原料中的挥发性组分与水分含量进行测定,称取原料约 10 g (精确至 0.1 mg),在 (135±2) °C 条件进行重复干燥,直到两次称量质量差不大于 0.000 1 g 时,视为恒重。挥发性组分与水分含量通过以下公式进行计算:

$$\omega = [(m_1 - m_2)/(m_1 - m_0)] \times 100\% \quad (2)$$

式中: m_0 是称量瓶的质量,g; m_1 是称量瓶和干燥前试剂的质量; m_2 是称量瓶和干燥后试剂的质量,g。

2 结果与讨论

2.1 化学特征反应定性分析结果

钠离子:称取 0.5 g 无水醋酸钠,加 10 mL 水溶解,用铂丝环蘸取盐酸在火焰上燃烧至无色,再蘸取醋酸钠溶液在酒精灯外焰上灼烧,出现黄色火焰并在数秒中不消失。

锂离子和钙离子:采用与上述相同的操作,灼烧氯化锂溶液出现紫红色火焰,灼烧氯化钙溶液出现砖红色火焰。

氯离子:分别称取 0.1 g 氯化锂和 0.1 g 氯化钙试样,溶解在 10 mL 蒸馏水中,滴加硝酸银溶

液,出现大量的白色沉淀,加入稀硝酸溶液,白色沉淀不溶解,说明溶液中含有氯离子。

醋酸根离子:用 FT-IR 对无水醋酸钠试样进行扫描测试,将所得到的试样谱图与标准谱图进行对照,结果表明试样谱图中各吸收峰的位置与形状和标准谱图完全相同,峰的相对强度基本一致,因此可以判定试样为无水醋酸钠,分析谱图见图 1。

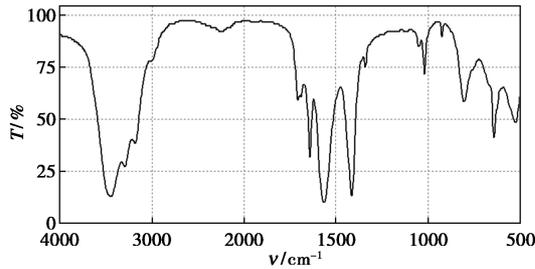


图 1 无水醋酸钠试样红外光谱图

Fig.1 Infrared spectrum of anhydrous sodium acetate sample

2.2 无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙纯度测定

2.2.1 无机杂质半定量分析结果

采用 ICP-MS 对无水醋酸钠、氯化锂和氯化钙中所含的无机杂质分别进行半定量测试,测试结果详见表 1~3,从表中结果可知,无水醋酸钠中

表 1 无水醋酸钠中无机杂质半定量测试结果

Tab.1 Semi-quantitative test results of inorganic impurities in anhydrous sodium acetate

序号	元素	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	序号	元素	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
1	Ag	21.01	7	Mn	9.54
2	B	5.69	8	Sr	8.81
3	Ba	2.03	9	Cs	46.03
4	Ca	17.66	10	K	11.19
5	Fe	11.59	11	Li	3.08
6	Mg	30.77	12	Rb	1.56

表 2 氯化锂中无机杂质半定量测试结果

Tab.2 Semi-quantitative test results of inorganic impurities in lithium chloride

序号	元素	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	序号	元素	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
1	Na	41.22	9	Mg	16.78
2	Al	3.55	10	Si	40.55
3	K	39.08	11	Ca	46.81
4	Cr	6.01	12	Ti	1.98
5	Fe	51.17	13	Ni	7.21
6	Cu	60.07	14	Zn	6.44
7	Rb	31.70	15	Cs	3.15
8	Ba	29.11			

表 3 氯化钙中无机杂质半定量测试结果

Tab.3 Semi-quantitative test results of inorganic impurities in calcium chloride

序号	元素	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	序号	元素	含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
1	Na	30.02	8	Fe	46.03
2	Mg	8.61	9	Ni	4.69
3	Al	33.54	10	Cu	7.01
4	Si	29.99	11	Zn	16.61
5	K	9.96	12	Sr	66.53
6	Cr	5.43	13	Ba	19.97
7	Mn	6.55	14	Pb	1.16

包含的主要无机杂质有 12 种,氯化锂中主要无机杂质有 15 种,氯化钙中主要无机杂质有 14 种,对上述 3 种原料中所检出的无机杂质分别进行定量分析。

2.2.2 无机杂质定量分析结果

采用 ICP-MS 与 ICP-OES 对无水醋酸钠、氯化锂和氯化钙中所含的无机杂质进行定量测试,分别重复测试 6 次,取平均值为最终测试结果,测试数据详见表 4,由表中测试结果可知,无水醋酸钠中杂质总含量为 $382.20 \mu\text{g}/\text{kg}$,氯化锂中杂质总含量为 $602.67 \mu\text{g}/\text{kg}$,氯化钙中杂质总含量为 $519.03 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表 4 原料中无机杂质定量测试结果

Tab.4 Quantitative test results of inorganic impurities in raw materials ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

	序号	1	2	3	4	5	6
无水醋酸钠	测试值	361.03	400.57	383.69	410.54	389.63	347.71
	平均值	382.20					
	标准偏差	21.74					
氯化锂	测试值	650.55	586.36	559.69	588.01	596.37	635.03
	平均值	602.67					
	标准偏差	30.84					
氯化钙	测试值	549.11	493.56	556.42	504.73	483.22	527.16
	平均值	519.03					
	标准偏差	27.40					

2.2.3 氧、氮、氢、碳、硫含量分析

采用氧氮氢分析仪和碳硫分析仪对无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙中所含的元素进行测定,测量 6 次,取平均值为最终的测量结果,其测量结果见表 5,由表中结果可知无水醋酸钠中氮、硫总含量为 0.000 90%,氯化锂中氧、氮、氢、碳、硫总含量为 0.003 96%,氯化钙中氧、氮、氢、碳、硫总含量为 0.003 51%。

表 5 原料中氧氮氢碳硫含量

Tab.5 Content of oxygen, nitrogen, hydrogen, carbon and sulfur in raw materials

		1	2	3	4	5	6	平均值	RSD
无水醋酸钠	N	0.000 66%	0.000 83%	0.000 55%	0.000 81%	0.000 78%	0.000 58%	0.000 70%	15.8%
	S	0.000 16%	0.000 23%	0.000 13%	0.000 21%	0.000 27%	0.000 18%	0.000 20%	23.4%
		1	2	3	4	5	6	平均值	RSD
氯化锂	O	0.001 70%	0.000 97%	0.001 30%	0.000 96%	0.001 90%	0.001 60%	0.001 40%	25.5%
	N	0.000 99%	0.001 20%	0.000 89%	0.001 00%	0.001 10%	0.000 82%	0.001 00%	12.6%
	H	0.000 54%	0.000 62%	0.000 41%	0.000 52%	0.000 69%	0.000 48%	0.000 54%	16.8%
	C	0.000 73%	0.000 69%	0.000 90%	0.000 86%	0.000 83%	0.000 74%	0.000 79%	9.6%
	S	0.000 26%	0.000 22%	0.000 25%	0.000 20%	0.000 17%	0.000 28%	0.000 23%	16.3%
		1	2	3	4	5	6	平均值	RSD
氯化钙	O	0.001 10%	0.001 80%	0.001 00%	0.001 40%	0.000 93%	0.000 89%	0.001 20%	27.0%
	N	0.000 94%	0.001 10%	0.000 92%	0.000 85%	0.001 00%	0.000 88%	0.000 95%	8.7%
	H	0.000 44%	0.000 61%	0.000 42%	0.000 55%	0.000 67%	0.000 58%	0.000 55%	16.4%
	C	0.000 77%	0.000 52%	0.000 61%	0.000 55%	0.000 66%	0.000 70%	0.000 64%	13.5%
	S	0.000 13%	0.000 17%	0.000 20%	0.000 15%	0.000 19%	0.000 16%	0.000 17%	14.1%

2.2.4 氟、氯、溴含量分析

采用离子色谱仪对无水醋酸钠中氟离子、氯离子和溴离子含量进行分析测定,对氯化锂与氯化钙中氟离子和溴离子进行分析测定。结果表明原料无水醋酸钠中未检出氟、氯、溴,氯化锂与氯化钙中未检出氟和溴,离子色谱仪测定氟、氯、溴的检出限分别为 0.005、0.001 和 0.009 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2.5 挥发性组分与水分含量分析

对无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙中的挥发性组分与水分含量平行测 6 次,以 6 次测量结果的平均值作为挥发性组分与水分含量的结果,分析结果见表 6,从表中数据结果可知原料无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙中挥发性组分与水分的含量分别为 0.004 2%、0.002 1%、0.002 7%。

表 6 原料中挥发性组分与水分含量测试结果

Tab.6 Volatile components and moisture content test results in raw materials

		1	2	3	4	5	6
无水醋酸钠	测试值	0.004 9%	0.003 8%	0.004 4%	0.003 5%	0.004 6%	0.004 0%
	平均值	0.004 2%					
	标准偏差	0.000 49%					
		1	2	3	4	5	6
氯化锂	测试值	0.002 2%	0.002 3%	0.002 3%	0.001 5%	0.002 4%	0.001 8%
	平均值	0.002 1%					
	标准偏差	0.000 32%					
		1	2	3	4	5	6
氯化钙	测试值	0.002 6%	0.003 3%	0.002 5%	0.002 6%	0.003 2%	0.002 1%
	平均值	0.002 7%					
	标准偏差	0.000 41%					

2.3 原料纯度测定结果汇总

采用杂质扣除法按照公式(1)计算得到各原料的纯度值。

2.4 原料纯度的不确定度评定

无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙的纯度值均采用杂质扣除法进行测定,其不确定度来源主要有用 ICP 方法测定无机杂质引入的不确定度,氧氮氢碳硫测定过程中引入的不确定度,氟氯溴测定过

表 7 无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙纯度测试结果

Tab.7 Purity test results of anhydrous sodium acetate, lithium chloride and calcium chloride

测试项目	无机杂质/%	氧氮氢碳硫/%	氟氯溴	水分与挥发性组分/%	杂质总量/%	纯度/%
无水醋酸钠	0.038 22	0.000 90	—	0.004 2	0.043 32	99.956
氯化锂	0.060 27	0.003 96	—	0.002 1	0.066 33	99.933
氯化钙	0.051 90	0.003 51	—	0.002 7	0.058 11	99.941

程中引入的不确定,挥发性组分与水分含量测定中引入的不确定度。下面以无水醋酸钠的纯度不确定度评定为例,选取代表元素对其测量过程的不确定度进行评定^[14,15]。

2.4.1 ICP 方法测无机杂质引入的标准不确定度, u_1

2.4.1.1 ICP 方法检出限引入的相对标准不确定度

采用 ICP-MS 和 ICP-OES 测量无水醋酸钠中无机杂质的含量,对于含量低于检出限的元素,其含量为检出限的一半,相对标准不确定度以 100% 计,其总标准不确定度为 0.466 $\mu\text{g}/\text{kg}$,低于检出限杂质的总含量为 2.097 $\mu\text{g}/\text{kg}$,则由未检出杂质引入的相对标准不确定度:

$$(0.466/2.097) \times 100\% = 22.23\%$$

2.4.1.2 对于检出元素,其不确定度的主要来源有:标准溶液引入的不确定度($u_{r,\text{std}}$)、样品溶液配制引入的不确定度($u_{r,\text{sam}}$)、标准曲线引入的不确定度($u_{r,c}$)。下面以无水醋酸钠中检出元素银(Ag)为例,详细陈述其测量过程中引入的不确定度分量。

2.4.1.3 标准溶液引入的相对标准不确定度, $u_{r,\text{std}}$

(1) 标准溶液本身引入的相对标准不确定度, $u_{1,r,\text{std}}$

在实验中所使用的标准溶液为国家二级溶液标准物质 GBW(E)082429 的 29 种元素混合溶液标准物质(10.0 mg/kg , $U_r = 3\%$, $k = 2$),则由标准溶液本身引入的相对标准不确定度为:

$$u_{1,r,\text{std}} = 3\%/2 = 1.50\%$$

(2) 标准溶液稀释过程中引入的相对标准不确定度, $u_{2,r,\text{std}}$

所使用的标准溶液的证书值为 10.0 mg/kg ,采用重量法将其分别稀释至 5.00、10.0、20.0、35.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,在标准溶液稀释过程中称取标准溶液最小质量为 0.2 g,此时引入的相对标准不确定度最大,因此取该值进行计算。由于在稀释过程中仅用到了分析天平,因此天平称量引入的不确定度分量如下:

天平称量示值误差引入的相对标准不确定度:

$$[\sqrt{2 \times (0.05/\sqrt{3})^2} / (0.2 \times 1000)] \times 100\% = 0.021\%$$

天平称量重复性引入的相对标准不确定度为:0.022%。

空气浮力校正引入的相对标准不确定度为:0.097%。

由于稀释至目标浓度过程中共计称量 2 次,故标准溶液稀释过程中引入的相对标准不确定度为:

$$u_{2,r,\text{std}} = \sqrt{2 \times [(0.021\%)^2 + (0.022\%)^2 + (0.097\%)^2]} = 0.144\%$$

综上所述,标准溶液引入的相对标准不确定度为:

$$u_{r,\text{std}} = \sqrt{(u_{1,r,\text{std}})^2 + (u_{2,r,\text{std}})^2} = \sqrt{(1.50\%)^2 + (0.144\%)^2} = 1.51\%$$

2.4.1.4 样品溶液配制引入的不确定度, $u_{r,\text{sam}}$

称取干燥后的无水醋酸钠 1.000 g 溶解在 999.0 g 的超纯水中,得到浓度为 1 000 mg/kg 的样品溶液,在制备过程中天平称量引入的不确定度包括称量溶质和溶剂两部分。

(1) 天平称量溶质引入的相对标准不确定度分量, $u_{1,r,\text{sam}}$

天平称量示值误差引入的相对标准不确定度:0.004%。

天平称量重复性引入的相对标准不确定度为:0.026%。

空气浮力校正引入的相对标准不确定度为:0.003%。

则称量 1.000 g 原料引入的相对标准不确定度为:

$$u_{1,r,\text{sam}} = \sqrt{(0.004\%)^2 + (0.026\%)^2 + (0.003\%)^2} = 0.027\%$$

(2) 天平称量溶剂引入的相对标准不确定度分量 $u_{2,r,\text{sam}}$

天平称量示值误差引入的相对标准不确定度:0.009%。

天平称量重复性引入的相对标准不确定度为:0.001%。

空气浮力校正引入的相对标准不确定度为:0.089%。

则由称量 999.0 g 超纯水引入的相对标准不确定度为:

$$u_{2,r,\text{sam}} = \sqrt{(0.009\%)^2 + (0.001\%)^2 + (0.089\%)^2} = 0.090\%$$

将上述不确定度分量进行合成,得到配制无水醋酸钠样品溶液过程中引入的相对标准不确定度:

$$u_{r,\text{sam}} = \sqrt{(0.027\%)^2 + (0.090\%)^2} = 0.094\%$$

2.4.1.5 标准曲线引入的相对标准不确定度, $u_{r,c}$

标准曲线引入的不确定度包括两部分,分别是标准曲线拟合引入的不确定度和测量重复性引入的不确定度。

(1) 标准曲线拟合引入的相对标准不确定度, $u_{1,r,c}$

标准曲线方程为:

$$y = a + bx$$

其中: y 为仪器响应值, b 为标准曲线斜率, x 为浓度值, a 为校准曲线截距。

标准曲线拟合引入的标准不确定度通过下式进行计算得到^[16]:

$$u(x) = (s/b) \times \sqrt{1/p + 1/n + (\bar{x}_s - \bar{x})^2 / \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$

其中: s 为标准曲线的残余标准偏差; b 为标准曲线的斜率; p 为对一样品平行测定的次数; n 为标准曲线各浓度点的总测量次数; \bar{x}_s 为待测元素的测量浓度平均值; \bar{x} 为标准溶液浓度平均值; x_i 为标准曲线中各点的浓度值。

标准曲线的残余标准偏差 s 计算公式如下:

$$s = \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 / (n - 2)} \quad (4)$$

其中: y_i 为第 x_i 点对应的响应值; \hat{y}_i 为第 x_i 点带入标准曲线得到的理论响应值; n 为参与标准曲线的浓度点和响应值的个数。

Ag 元素的标准曲线为 $y = 32.167x + 2.634$, 样品平行测量 6 次, 故 $P = 6$, 标准曲线共计 6 个点, 分别为 0.00、5.00、10.0、20.0、35.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 每个点重复测 3 次, 故 $n = 18$, 计算得到标准溶液浓度平均值为 $\bar{x} = 20.0 \mu\text{g}/\text{kg}$, Ag 元素的测量浓度平均值 $\bar{x}_s = 21.01 \mu\text{g}/\text{kg}$, 校准曲线斜率 $b = 32.167$, 标准曲线中各浓度点重复测 3 次, 由上述公式(4) 计算得到标准曲线残余标准偏差 s 为 7.694, 根据公式(3) 计算得到由标准曲线拟合引入的标准不确定度为 $u_c = 0.113 \mu\text{g}/\text{kg}$, 其相对标准不确定度为 $u_{1,r,c} = 0.538\%$ 。

(2) 测量重复性引入的相对标准不确定度, $u_{2,r,c}$

每个样品重复测量 6 次, 以 6 次测量结果平均值的标准偏差作为测量重复性引入的标准不确定度, 对于检出元素 Ag, 其测量重复性引入的相对标准不确定度计算结果如表 8 所示。

对于上述不确定度分量进行合成, 标准曲线测量过程引入的相对标准不确定度为:

$$u_{r,c} = \sqrt{(0.538\%)^2 + (0.676\%)^2} = 0.864\%$$

表 8 原料中无机杂质测量重复性引入的相对标准不确定度(以 Ag 为例)

Tab.8 Relative standard uncertainty introduced by measurement repeatability of inorganic impurities in raw materials (Ag as an example)

元素	测量平均含量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	标准偏差/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	标准不确定度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	相对标准 不确定度
Ag	21.013	0.349	0.142	0.676%

则检出元素 Ag 测量过程中引入的相对标准不确定度计算结果如下:

$$u_r(\text{Ag}) = \sqrt{u_{r,\text{std}}^2 + u_{r,\text{sam}}^2 + u_{r,c}^2} = \sqrt{(1.51\%)^2 + (0.094\%)^2 + (0.864\%)^2} = 1.75\%$$

根据纯度定值结果, 共计检出元素为 12 种, 则检出元素总的相对标准不确定度为 20.91%。对上述检出和未检出元素的相对标准不确定度进行合成, 得到无机杂质测量引入的相对标准不确定度为:

$$\sqrt{(22.23\%)^2 + (20.91\%)^2} = 30.52\%$$

则由 ICP 测无水醋酸钠中无机杂质引入的标准不确定度为:

$$u_1 = 0.044\% \times 30.52\% = 0.0135\%$$

2.4.2 氧、氮、氢、碳、硫测量引入的标准不确定度, u_2

无水醋酸钠中氮、硫 6 次测量的标准偏差分别为 0.000 11% 和 0.000 05%, 则由氮、硫测量结果平均值引入的标准不确定度为:

$$u_2 = \sqrt{u_N^2 + u_S^2} = \sqrt{(0.00011\%/\sqrt{6})^2 + (0.00005\%/\sqrt{6})^2} = 0.00005\%$$

2.4.3 氟、氯、溴测量引入的标准不确定度, u_3

采用离子色谱仪对无水醋酸钠中氟、氯、溴的含量进行测定, 其含量均低于检出限, 因此取其含量为检出限的一半, 相对标准不确定度以 100% 计, 氟、氯、溴杂质的总含量为 0.010 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其标准不确定度为 0.003 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 则由氟、氯、溴杂质引入的相对标准不确定度为 28.57%, 由离子色谱仪测无水醋酸钠种杂质引入的标准不确定度为:

$$u^3 = 0.044\% \times 28.57\% = 0.0126\%$$

2.4.4 挥发性组分与水分测量引入的标准不确定度, u_4

无水醋酸钠中挥发性组分与水分 6 次测量的标准偏差为 0.000 49%, 则由挥发性组分与水分测量结果平均值引入的标准不确定度:

$$u_4 = 0.00049\%/\sqrt{6} = 0.0002\%$$

综上所述,对原料无水醋酸钠用 ICP 测定无机杂质引入的不确定度,氧氮氢碳硫测定过程中引入的不确定度,氟氯溴测定过程中引入的不确定度,挥发性组分与水分含量测定中引入的不确定度进行合成,得到无水醋酸钠纯度测量结果引入的标准不确定度为:

$$u_{\text{NaAc}} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} = 0.0185\% \approx 0.019\%$$

取包含因子 $k=2$, 置信概率约为 95%, 则无水醋酸钠的纯度为 99.956%±0.038%。

按照上述不确定度评定过程,分别对原料氯化锂和氯化钙纯度引入的不确定度进行评定,评定结果详见表 9。

表 9 无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙的纯度值及扩展不确定度

Tab.9 Purity and expanded uncertainty of anhydrous sodium acetate, lithium chloride and calcium chloride

原料	纯度值/ %	标准不确定度/ %	扩展不确定度/%, $k=2$
无水醋酸钠	99.956	0.019	0.038
氯化锂	99.933	0.027	0.054
氯化钙	99.941	0.024	0.048

3 结论

原料试剂纯度值准确与否对使用者至关重要,它关系到所配制溶液量值是否准确,实验结果是否可靠,对于标准物质生产与使用行业尤为重要。因此,采用可靠的实验方法对原料纯度进行定值测定是非常有必要的。在本文中,采用 ICP-MS、ICP-OES、氧氮氢分析仪、碳硫分析仪、离子色谱仪对原料无水醋酸钠、氯化锂、氯化钙中的无机杂质含量进行分析测定,采用干燥减量法对原料中的挥发性组分与水分含量进行测定,使用杂质扣除法计算得到原料的纯度值。通过对每种分析方法引入的不确定度进行了详细评定,得到原料纯度的不确定度评定结果,原料纯度定值结果可用于标准物质的研制、相关溶液的配制与使用。

参考文献:

[1] 国家质量监督检验检疫总局. 标准物质通用术语和定

义:JJF1005—2016[S].北京:中国质检出版社,2016.

- [2] 赵艳,李娜,谢艳艳,等.标准物质及其在分析测试中的重要作用[J].中国标准化,2019,19:185-190.
- [3] 李秀琴,逯海,李红梅,等.食品安全化学计量技术与标准物质发展[J].食品安全质量检测学报,2018,9(15):3 891-3 896.
- [4] 管阳凡,杨惠琴,郭德华.农药残留检测用联苯三唑醇和丙硫菌唑标准物质的定值与不确定度评估[J].理化检验-化学分册,2019,55(1):91-96.
- [5] 张丽芳,张亮,杜瑞焕,等.气相色谱法测定蔬菜中农药残留量的测量不确定度评定[J].计量学报,2022,43(7):965-972.
- [6] 刘淑华,王冰玥,王骏,等.气相色谱-质谱联用仪校准质量准确性用异辛烷中硬脂酸甲酯溶液标准物质研制及不确定度评定[J].化学分析计量,2021,30(7):1-7.
- [7] 邓晓辉,项珍,张丽.液相色谱-原子荧光联用仪最小检测量检定结果的不确定度评定[J].计量与测试技术,2021,48(1):106-107;114.
- [8] 于飞,郭建亭.液相色谱检测仪示差折光率检测器不确定度评定及影响因素[J].现代商贸工业,2020,41(23):158-159.
- [9] 孙倩芸,李锋丽,杨焕蝶,等.锰纯度定值及其单元素溶液标准物质的研制[J].化学分析计量,2019,28(5):1-5.
- [10] 孙倩芸,吕邓义,高捷,等.铈元素溶液标准物质的研制[J].化学试剂,2022,44(3):462-467.
- [11] 国家质量监督检验检疫总局.电解质分析仪:JJG 1051—2021[S].北京:中国质检出版社,2021.
- [12] 王潇磊,李明,郑瑶,等.ICP-MS 在线监测地表水中 23 种元素的应用[J].能源与环保,2022,44(2):132-137.
- [13] 叶艺伟.ICP-OES 测定土壤中多种元素的研究[J].福建分析测试,2022,31(3):34-38.
- [14] 李红梅,孟凡敏,卢晓华,等.标准物质质量控制及不确定度评定[M].北京:中国质检出版社,2014.
- [15] 国家质量监督检验检疫总局.测量不确定度评定与表示:JJF 1059.1—2012[S].北京:中国质检出版社,2012.
- [16] 刘渊,丁建华,王茂仁.直线拟合中的不确定度计算[J].物理与工程,2009,19(2):25.

合成与工艺技术

新型喹唑啉酮类衍生物的设计、合成与体外抗肿瘤活性评价

赵灿¹, 李志¹, 马晓东^{*1,2}

(1.安徽中医药大学 药学院,安徽 合肥 230012;2.安徽省中医药科学院 药物化学研究所,安徽 合肥 230012)

摘要:为发现具有抗实体瘤活性的新型喹唑啉酮类衍生物,以 2-氨基-6-氯苯甲酸为原料,经缩合、环合、亲核取代、脱 Boc、芳族亲核取代以及羟胺解反应,得到 3 个目标分子,并通过 ¹HNMR、¹³CNMR 以及 HR-MS 对其进行了结构确证。目标化合物的抗增殖活性测试结果表明,所有目标分子对 PC-3、MDA-MB-231 以及 T-47D 这 3 种实体瘤细胞株的增殖抑制活性均与阳性对照 SAHA、Idelalisib 相当或更优,且对正常细胞毒性较低。分子对接的结果,揭示了目标化合物与 PI3K δ 蛋白以及 HDAC 蛋白的可能结合模式。

关键词:设计;合成;磷脂酰肌醇-3-激酶 δ ;组蛋白去乙酰化酶;抗增殖活性

中图分类号:R914.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)12-0112-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0490

Novel Quinazolinone Derivatives: The Design, Synthesis and *In vitro* Antitumor Activity Evaluation ZHAO Can¹, LI Zhi¹, MA Xiao-dong^{*1,2} (1.College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2.Department of Medicinal Chemistry, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

Abstract: This study aimed at the discovery of novel quinazolinone derivatives for battling solid tumors. Three target compounds were obtained through condensation, cyclization, nucleophilic substitution, Boc-deprotection, aromatic nucleophilic substitution, and hydroxylaminolysis reactions with 2-amino-6-chlorobenzoic acid as raw materials. Structural confirmations were achieved through ¹HNMR, ¹³CNMR, and HR-MS analysis. The anti-proliferative assay demonstrated that all the target compounds exhibited comparable or superior activity to the positive control SAHA and Idelalisib against the three solid tumor cell lines (PC-3, MDA-MB-231, and T-47D), and low cytotoxicity towards normal cells. The results of molecular docking elucidate the possible binding mode of target compound with PI3K δ protein and HDAC protein.

Key words: design; synthesis; phosphatidylinositol-3 kinase δ ; histone deacetylase; anti-proliferative activity

磷脂酰肌醇-3-激酶 (Phosphatidylinositol-3 kinases, PI3Ks) 负责催化细胞内磷脂酰肌醇的磷酸化,在蛋白质合成、细胞增殖、分化、迁移、自噬和凋亡等多种生理功能中发挥着重要作用,与多

种肿瘤的发生密切相关^[1]。PI3Ks 分为 3 个亚族,其中 I 亚族的 PI3K δ 可介导 B 细胞的恶性增殖、存活和迁移。目前,艾代拉里斯 (Idelalisib, 1)、杜韦利西布 (Duvelisib, 2)、厄布利塞 (Umbralisib, 3) 和林普利塞 (Linperlisib, 4) 等 PI3K δ 抑制剂作为 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 (B-NHL) 的治疗药物,已获批上市 (图 1)。然而,靶向 PI3K δ 在实体瘤治疗方面的应用研究相对较少。

近期研究表明^[2-4], PI3K δ 亦是包括乳腺癌、

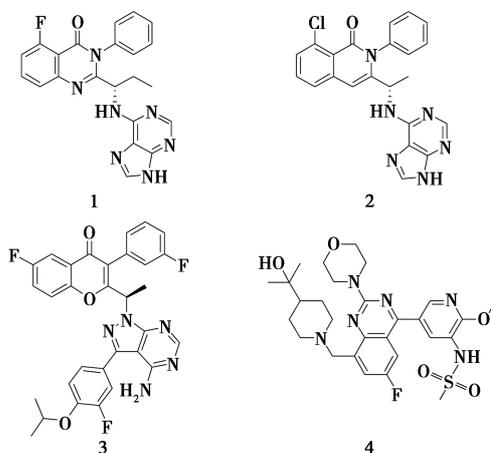


图 1 已获批上市的 PI3K δ 抑制剂

Fig.1 Approved PI3K δ inhibitors

收稿日期:2023-07-21;网络首发日期:2023-08-25

基金项目:安徽省自然科学基金面上项目(2208085MH280);安徽高校协同创新项目(GXXT-2022-063)。

作者简介:赵灿(1999-),男,安徽亳州人,硕士生,主要从事药物化学设计与合成的研究。

通讯作者:马晓东, E-mail: o-omaxiaodong@163.com。

引用本文:赵灿,李志,马晓东.新型喹唑啉酮类衍生物的设计、合成与体外抗肿瘤活性评价[J].化学试剂,2023,45(12):112-117。

结肠癌、前列腺癌和肝癌在内的多种实体瘤的内驱动因素。在乳腺癌细胞中,可观察到 PI3K δ 的异常表达,而抑制 PI3K δ 可通过干预肿瘤细胞内信号通路及调控肿瘤微环境的双重机制,发挥抗乳腺癌作用^[5,6]。在前列腺癌以及肝癌发展的过程中,同样可见 PI3K δ 的表达逐渐升高,而 Idelalisib 可发挥显著的体内外抗肝癌效果^[7-9]。因此,靶向 PI3K δ 在治疗实体瘤方面同样具有应用前景。

尽管 PI3K 抑制剂的研发已取得诸多成果,但现有 PI3K 抑制剂均存在疗效不足以及耐药等问题^[10]。单独干预 PI3K 信号通路,可引起互补信号通路的交叉激活,从而诱发耐药。组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylases, HDACs)是表观遗传学中的重要抗癌靶点^[11]。研究表明^[12], PI3K 抑制剂与 HDAC 抑制剂联合用药不仅可提高疗效,亦能延缓耐药的发生^[13,14]。较之联合用药,单分子双靶点药物可规避药物间相互作用,简化药物代谢动力学,提升患者的依从性^[15]。目前,基于 PI3K 泛抑制剂和 HDAC 抑制剂分子结构所设计的融合型分子 CUDC-907 正处于临床研究中。然而,该化合物由于对 PI3K、HDAC 均缺乏亚型选择性,毒副作用显著,故临床试验停滞不前,且不适用于实体瘤治疗。而基于具有 PI3K δ 亚型选择性的结构骨架,设计相应的融合型分子,有望解决该问题。

在前期工作中^[16,17],本团队发现一活性优异的 PI3K δ 选择性抑制剂 TGMXD-208。该化合物的 PI3K δ 结合模式表明,其喹唑啉酮母核的 N-3 位指向溶剂区,故可供 HDAC 药效片段的引入。同时,本团队在开展 HDAC 抑制剂研究的过程中,发现哌啶取代的嘧啶异羟肟酸片段对抑酶活

性、Class I HDAC 亚族选择性尤为重要^[18,19]。因此,本团队拟采用药效团融合策略,将该片段并入 TGMXD-208(5) 喹唑啉酮母核的 N-3 位,以发现具有进一步研究价值的新型抗实体瘤喹唑啉酮类化合物。为验证该类融合型分子抗实体瘤的可行性,本文初步设计、合成了 3 个结构新颖的喹唑啉酮衍生物(图 2),并评价了其对于前列腺癌细胞 PC-3、乳腺癌细胞 MDA-MB-231、乳腺癌细胞 T-47D 和人脐静脉内皮细胞 HUVECs(正常细胞)的增殖抑制活性。活性筛选结果表明,上述化合物对受试实体瘤细胞株,呈现出显著的体外抗增殖活性,同时对正常细胞的毒性较低。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

FA2004 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);ZF-7 型三用紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);WB-2000 型水浴锅、R-1001VN 型旋转蒸发仪、DLSB-5/20 型低温冷却液循环泵(郑州长城科工贸有限公司);SHZ-D(III)型循环水式多用真空泵、DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(河南予华仪器有限公司);Avance II 400 MHz 型核磁共振仪、Orbitrap Exploris 120 型质谱仪、三气培养箱(美国赛默飞世尔科技公司);Berthold LB941 型微孔板式多功能酶标仪(德国 Berthold 公司)。

二甲基亚砜、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二异丙基乙胺、氢氧化钠(分析纯或化学纯,上海安耐吉化学有限公司)。

1.2 合成路线

目标化合物的合成路线如图 3 所示。以 2-氨基-6-氯苯甲酰胺为原料,经缩合、环合、亲核取代、脱 Boc、芳族亲核取代以及羟胺解获得目标化合物 14a~14c,所有目标化合物均经 ¹H NMR、¹³C NMR 以及 HR-MS 进行了结构确证。

1.3 合成步骤及结构确证

1.3.1 2-氨基-6-氯苯甲酰胺(7)的制备

将 2.70 g (15.74 mmol) 2-氨基-6-氯苯甲酰胺(6)溶于 50 mL 二甲基亚砜(DMSO)中,加入 4.53 g (23.61 mmol) 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDCI)、3.19 g (23.61 mmol) 1-羟基苯并三唑(HOBt),室温搅拌 1 h 后,加入 4.07 g (31.48 mmol) N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)和 2.53 g (47.22 mmol) 氯化铵继续反应 1 h。待

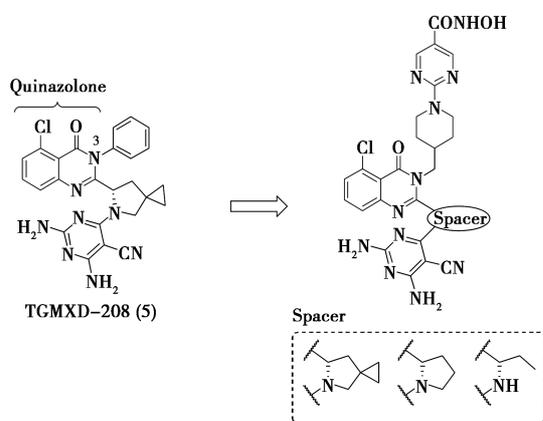
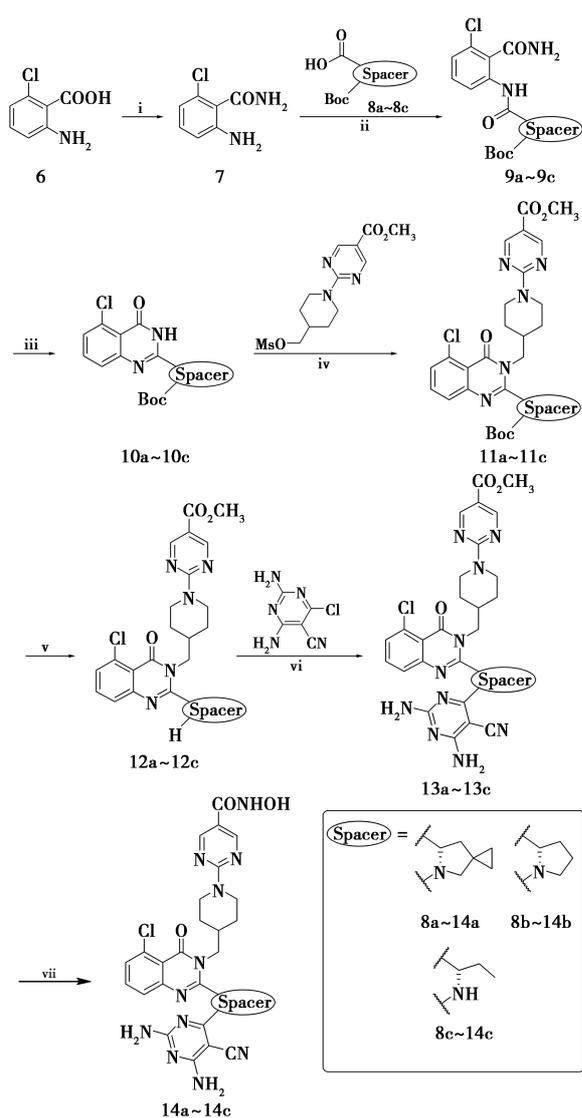


图 2 目标分子的设计思路

Fig.2 Design rationale of target compounds



Reagents and conditions: (i) EDCl, HOBT, DIPEA, DMSO, NH_4Cl , r. t.; (ii) HATU, DIPEA, DMF, N_2 , 90 °C; (iii) NaOH, EtOH, 80 °C; (iv) K_2CO_3 , DMF, 60 °C; (v) TFA, DCM, 0 °C to r. t.; (vi) KF, DIPEA, DMSO, N_2 , 90 °C; (vii) NH_2OH , NaOH, THF, MeOH, 0 °C to r. t.

图 3 目标化合物的合成路线

Fig.3 Synthetic route of the target compound

反应结束,用乙酸乙酯萃取,饱和氯化钠溶液(100 mL×3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,残留物经硅胶柱层析,得到 2.50 g 白色固体,产率 93%。

1.3.2 (*S*)-6-((2-氨基甲酰基-3-氯苯基)氨基甲酰基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-甲酸叔丁酯(9a)的制备

将 2.48 g(14.54 mmol)化合物 7 溶于 20 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中,加入 7.02 g(29.08 mmol)(*S*)-5-(叔丁氧羰基)-5-氮杂螺环[2.4]庚烷-6-羧酸(8a)、11.06 g(29.08 mmol)2-(7-氮杂

苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU)、1.3 g(87.24 mmol)*N,N*-二异丙基乙胺,于 N_2 氛围下,升温至 90 °C 回流反应 5 h。待反应结束,用乙酸乙酯萃取,饱和氯化钠溶液(100 mL×3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,残留物经硅胶柱层析,得到 4.48 g 白色固体,产率 78%。

1.3.3 (*S*)-6-(5-氯-4-氧代-3,4-二氢喹啉-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-甲酸叔丁酯(10a)的制备

将 4.48 g(14.54 mmol)化合物 9a 溶于 30 mL 乙醇中,加入 1.78 g(44.56 mmol)氢氧化钠,升温至 80 °C 回流反应 4 h。待反应结束,冰浴下以浓盐酸调至 pH 7~8,用乙酸乙酯萃取,饱和氯化钠溶液(100 mL×3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,残留物经硅胶柱层析,得到 2.62 g 白色固体,产率 63%。

1.3.4 (*S*)-6-(5-氯-3-((1-(5-(甲氧羰基)嘧啶-2-基)哌啶-4-基)甲基)-4-氧代-3,4-二氢喹啉-2-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-5-甲酸叔丁酯(11a)的制备

将 0.70 g(1.86 mmol)化合物 10a 溶于 15 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中,加入 0.67 g(2.05 mmol)(1-(5-(甲氧羰基)嘧啶-2-基)哌啶-4-基)甲磺酸甲酯、0.28 g(2.05 mmol)碳酸钾,升温至 60 °C 回流反应 10 h。待反应结束,用乙酸乙酯萃取,饱和氯化钠溶液(50 mL×3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,残留物经硅胶柱层析,得到 1.09 g 白色固体,产率 96%。

1.3.5 (*S*)-2-(4-((5-氯-4-氧代-2-(5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)喹啉-3(4*H*)-基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酸甲酯(12a)的制备

将 0.33 g(0.54 mmol)化合物 11a 溶于 4 mL 无水二氯甲烷(DCM)中,冰浴下加入 0.74 g(6.48 mmol)三氟乙酸(TFA),室温反应 4 h。待反应结束,冰浴下以饱和碳酸氢钠水溶液调至 pH 7~8,用二氯甲烷(DCM)萃取,饱和氯化钠溶液(50 mL×3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,残留物经硅胶柱层析,得到 0.27 g 白色固体,产率 93%。

1.3.6 (*S*)-2-(4-((5-氯-2-(5-(2,6-二氨基-5-氰基嘧啶-4-基)-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基)-4-氧代喹啉-3(4*H*)-基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酸甲酯(13a)的制备

将 0.25 g(0.49 mmol)化合物 12a 溶于 5 mL

二甲基亚砷中,加入 0.08 g(0.49 mmol)2,4-二氨基-5-氰基-6-氯嘧啶、0.06 g(0.98 mmol)氟化钾、0.19 g(1.47 mmol)*N,N*-二异丙基乙胺,于 N_2 氛围下,升温至 90 °C 回流反应 10 h。待反应结束,向反应瓶中加水、静置,析出固体,抽滤,滤饼经硅胶柱层析,得到 0.21 g 白色固体,产率 90%。

1.3.7 (S)-2-(4-((5-氯-2-(5-(2,6-二氨基-5-氰基嘧啶-4-基))-5-氮杂螺[2.4]庚烷-6-基))-4-氧代喹唑啉-3(4*H*)-基)甲基)哌啶-1-基)-*N*-羟基嘧啶-5-甲酰胺(14a)的制备

将 0.10 g(2.50 mmol)氢氧化钠溶于 1.5 mL 羟胺(NH_2OH)中,冰浴搅拌 0.5 h 后,加入 0.20 g(0.31 mmol)化合物 13a、4 mL 混合溶剂(*V*(四氢呋喃):*V*(甲醇)=1:1),室温反应 5 h。待反应结束,冰浴下以浓盐酸调至 pH 7~8,用乙酸乙酯萃取,饱和氯化钠溶液(50 mL×3)洗涤,有机相经无水硫酸钠干燥后过滤,滤液浓缩,残留物经硅胶柱层析,得到 0.18 g 白色固体,产率 87%。 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.06(s, 1H, OH); 9.01(s, 1H, NH); 8.66(s, 2H, Ar—H); 7.82~7.78(m, 2H, Ar—H); 7.68~7.64(m, 1H, Ar—H); 6.45(s, 2H, NH_2); 6.14(s, 2H, NH_2); 5.64(s, 1H, CH); 4.76(d, 2H, $J=13.0$ Hz, CH_2); 4.51(s, 1H, CH_2); 4.21(m, 1H, CH_2); 3.94~3.77(m, 2H, CH_2); 3.85(s, 1H, CH_2); 3.00~2.80(m, 2H, CH_2); 2.55(s, 1H, CH_2); 2.09(m, 1H, CH); 1.96~1.87(m, 1H, CH_2); 1.80(m, 2H, CH_2); 0.64(d, 1H, $J=6.4$ Hz, CH_2); 0.56(m, 1H, CH_2); 0.47(s, 1H, CH_2); 0.20(s, 1H, CH_2)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 167.10, 165.81, 162.50, 161.79, 161.76, 157.59, 153.88, 140.70, 134.14, 129.57, 127.46, 123.63, 123.18, 120.16, 116.05, 114.61, 112.99, 63.44, 60.84, 49.38, 46.68, 46.02, 43.79, 43.72, 35.25, 19.21, 14.42, 9.03。 HR-MS, m/z : 643.239 3[M+H] $^+$ 。

化合物 14b、14c 参考化合物 14a 的制备方法制备。

(S)-2-(4-((5-氯-2-(1-(2,6-二氨基-5-氰基嘧啶-4-基)吡咯烷-2-基))-4-氧代喹唑啉-3(4*H*)-基)甲基)哌啶-1-基)-*N*-羟基嘧啶-5-甲酰胺(14b):白色固体,产率 83%。 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.07(s, 1H, OH); 9.01(s, 1H, NH); 8.66(s, 2H, Ar—H); 7.81~7.77(m, 2H, Ar—H); 7.65(m, 1H, Ar—H); 6.43(s, 2H,

NH_2); 6.09(s, 2H, NH_2); 5.48(d, 1H, $J=7.7$ Hz, CH); 4.80~4.72(m, 2H, CH_2); 4.50(m, 1H, CH_2); 4.23(m, 1H, CH_2); 4.07~3.97(m, 1H, CH_2); 3.95~3.82(m, 1H, CH_2); 3.06(q, 1H, $J=7.3$ Hz, CH_2); 3.00~2.83(m, 2H, CH_2); 2.35(m, 1H, CH); 2.15~2.02(m, 2H, CH_2); 2.01~1.91(m, 2H, CH_2); 1.82(t, 2H, $J=14.2$ Hz, CH_2)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 167.08, 165.66, 162.56, 161.87, 161.75, 157.59, 153.94, 140.71, 134.16, 129.58, 127.45, 123.64, 123.18, 120.07, 116.04, 114.60, 112.91, 63.80, 60.75, 57.07, 46.72, 43.77, 43.69, 35.21, 28.72, 28.36, 19.28。 HR-MS, m/z : 617.224 3[M+H] $^+$ 。

(S)-2-(4-((5-氯-2-(1-(2,6-二氨基-5-氰基嘧啶-4-基)氨基)丙基))-4-氧代喹唑啉-3(4*H*)-基)甲基)哌啶-1-基)-*N*-羟基嘧啶-5-甲酰胺(14c):白色固体,产率 80%。 1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.06(s, 1H, OH); 9.00(s, 1H, NH); 8.67(s, 2H, Ar—H); 7.89~7.78(m, 2H, Ar—H); 7.70(d, 1H, $J=6.7$ Hz, Ar—H); 6.64(s, 2H, NH_2); 6.60(d, 1H, $J=8.1$ Hz, Ar—H); 6.43(s, 2H, NH_2); 5.27(t, 1H, $J=6.4$ Hz, CH); 4.78(d, 2H, $J=12.5$ Hz, CH_2); 4.57~4.40(m, 2H, CH_2); 3.00(t, 2H, $J=7.2$ Hz, CH_2); 2.30~2.18(m, 1H, CH_2); 2.15~2.03(m, 1H, CH); 1.96(s, 1H, CH_2); 1.92(d, 2H, $J=8.4$ Hz, CH_2); 1.47~1.34(m, 2H, CH_2); 0.84(t, 3H, $J=7.2$ Hz, CH_3)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 166.20, 165.35, 162.47, 161.81, 157.59, 153.27, 140.71, 134.51, 129.75, 127.39, 123.63, 123.18, 118.25, 116.04, 114.63, 113.17, 60.56, 56.25, 46.69, 43.81, 35.49, 27.77, 19.30, 10.18。 HR-MS, m/z : 605.224 4[M+H] $^+$ 。

1.4 体外抗增殖活性测试

用 MTT 法检测目标化合物对细胞(PC-3 细胞株、MDA-MB-231 细胞株、T-47D 细胞株、HUVECs 细胞株)增殖的影响。实验步骤如下:将细胞以 1×10^4 /孔的密度接种到 96 孔板中,置 37 °C、5% CO_2 培养箱培养过夜。第 2 d 弃去培养基,加入药物浓度为 0.16、0.8、4、20、100 $\mu mol/L$ 的含药培养基,每组设 3 个复孔,孵育 96 h 后,向每个孔中加入 20 μL (0.5 mg/mL) MTT 溶液,置培养箱中孵育 4 h 后,弃去孔内液体,每孔加入 100 μL 的二甲基亚砷,采用酶标仪测得 490 nm 处的吸光

度值,并计算抑制率,拟含量效曲线分析数据,得出 IC_{50} 值。

1.5 分子对接

基于配体/PI3K δ 蛋白复合物晶体结构(PDB code 4EX0)以及配体/HDAC1 蛋白复合物晶体结构(PDB code 5ICN)^[20,21],将化合物分别与 PI3K δ 以及 HDAC1 进行分子对接。去除蛋白晶体内部原始配体和溶剂分子,对蛋白加氢并施加 CHARMM 力场,得到预处理的分子对接受体。配体制备完成后,选取原始配体在酶中的位置作为活性位点,完成分子配体的预处理。应用 Discovery Studio 2020 软件中的 CDOCKER 模块将小分子配体与蛋白受体对接,综合打分函数和相互作用模式选取对接构象。

2 结果与讨论

2.1 体外抗增殖活性

体外抗增殖活性测试结果表明,所有目标分子对 PC-3、MDA-MB-231 以及 T-47D 这 3 种实体瘤细胞株均表现出优异的抗增殖活性,与阳性对照 SAHA(上市 HDAC 抑制剂)、Idelalisib 相当甚至更优。较之其他细胞株,目标分子对 PC-3 细胞株的抗增殖活性最佳。其中,化合物 14a 对 PC-3 细胞株的抗增殖活性最强($IC_{50} = (0.164 \pm 0.006) \mu\text{mol/L}$),且优于阳性对照 SAHA 以及 Idelalisib。此外,化合物 14a 对 T-47D 细胞株的抗增殖活性较之其他化合物更强($IC_{50} = (3.567 \pm 0.161) \mu\text{mol/L}$),而化合物 14c 对 MDA-MB-231 细胞株的抗增殖活性较之其他化合物更强($IC_{50} = (1.419 \pm 0.152) \mu\text{mol/L}$)。较之阳性对照 SAHA 和 Idelalisib,所有目标分子对正常细胞 HUVECs 的毒性更低,对肿瘤细胞呈现出优良的选择性。化合物 14a、14c 对 3 种细胞株的抗增殖活性均优于两种阳性对照,在后续研究中,将进一步丰富化

表 1 目标化合物的抗增殖活性^注

Compound	Anti-proliferative $IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$			
	PC-3	MDA-MB-231	T-47D	HUVECs
14a	0.164±0.006	4.085±0.611	3.567±0.161	44.408±8.146
14b	0.235±0.002	6.392±1.806	6.459±0.105	41.112±4.345
14c	0.203±0.009	1.419±0.152	4.214±0.079	39.414±3.455
SAHA	0.329±0.007	5.696±0.756	9.511±0.533	9.267±0.352
Idelalisib	5.828±0.042	6.754±0.830	>100	37.634±3.961

注: IC_{50} 值为 $\text{mean} \pm \text{SD}(n=3)$ 。

合物的结构多样性,以获得抗实体瘤活性更优的化合物。

2.2 分子对接

化合物 14a 与 PI3K δ 的分子对接结果表明(图 4a),其 2,6-二氨基-5-氰基嘧啶结构与铰链区氨基酸残基 GLU826 和 ASP911 产生氢键相互作用,同时,与氨基酸残基 TYR813 产生 $\pi-\pi$ 堆积作用;喹唑啉酮母核位于特异性口袋中,与 TRP760 产生 $\pi-\pi$ 堆积作用。此外,连接于喹唑啉酮母核 N-3 位 HDAC 药效片段指向溶剂区,未与 PI3K δ 蛋白产生空间冲突。以上结合模式亦有望赋予化合物良好的 PI3K δ 亚型选择性。

化合物 14a 与 HDAC1 蛋白对接结果表明(图 4b),其结合模式亦较为合理:异羟肟酸基团可与催化口袋底部的 Zn^{2+} 配位,并与 HDAC1 催化通道中氨基酸残基 GLY149 产生氢键相互作用,而嘧啶环可与 HDAC1 催化通道中的氨基酸残基 PHE150 和 PHE205 产生 $\pi-\pi$ 堆积作用。

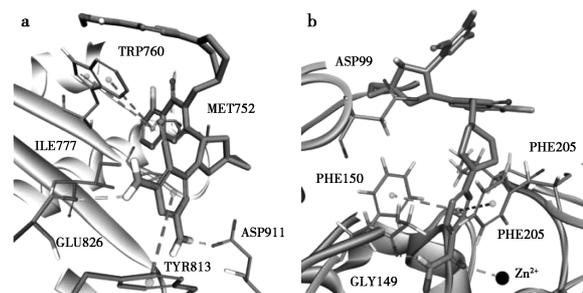


图 4 化合物 14a 与 PI3K δ 蛋白(a)以及 HDAC1 蛋白(b)的分子对接图

Fig.4 Docking modes of compound 14a with PI3K δ protein(a) and HDAC1 protein(b)

综上所述,化合物 14a 与 PI3K δ 和 HDAC1 的结合模式合理,有望产生双靶抑制活性。

3 结论

该研究采用药效团融合策略,以 PI3K δ 抑制剂 TGMXD-208 为先导物,通过在其母核的 N-3 位并入本团队前期发现的 HDAC 活性片段设计、合成目标分子,并经抗增殖实验,得到 3 个具有优良体外抗实体瘤活性的喹唑啉酮衍生物。其中,化合物 14a 与 14c 对 3 种实体瘤细胞株的抗增殖活性均优于阳性对照 SAHA 和 Idelalisib,且对正常细胞毒性较低。分子对接结果显示,化合物 14a 与 PI3K δ 蛋白以及 HDAC1 蛋白的结合模式合理,有望产生双靶抑制活性。以上研究结果初步证实了所设计的融合型分子抗实体瘤的可行性,

并为进一步丰富此类分子的结构多样性、开展系统的构效关系研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] FRUMAN D A, CHIU H, HOPKINS B D, et al. The PI3K pathway in human disease [J]. *Cell*, 2017, **170**(4): 605-635.
- [2] XENOU L, PAPAKONSTANTI E. p110 δ PI3K as a therapeutic target of solid tumours [J]. *Clin. Sci.*, 2020, **134**(12): 1 377-1 397.
- [3] VASAN N, CANTLEY L C. At a crossroads: How to translate the roles of PI3K in oncogenic and metabolic signaling into improvements in cancer therapy [J]. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2022, **19**(7): 471-485.
- [4] ESCHWEILER S, RAMIREZ S C, LI Y, et al. Intermittent PI3K δ inhibition sustains anti-tumour immunity and curbs irAEs [J]. *Nature*, 2022, **605**: 741-746.
- [5] ZHANG Z, RICHMOND A. The role of PI3K inhibition in the treatment of breast cancer, alone or combined with immune checkpoint inhibitors [J]. *Front. Mol. Biosci.*, 2021, **8**: 648-663.
- [6] ALI K, SOOND D R, PINEIRO R, et al. Inactivation of PI(3)K p110 δ breaks regulatory T-cell-mediated immune tolerance to cancer [J]. *Nature*, 2014, **510**: 407-411.
- [7] JIANG X, CHEN S, ASARA J M, et al. Phosphoinositide 3-kinase pathway activation in phosphate and tensin homolog (PTEN)-deficient prostate cancer cells is independent of receptor tyrosine kinases and mediated by the p110 β and p110 δ catalytic subunits [J]. *J. Biol. Chem.*, 2010, **285**(20): 14 980-14 989.
- [8] CHEN J S, HUANG J Q, LUO B, et al. PIK3CD induces cell growth and invasion by activating AKT/GSK-3 β / β -catenin signaling in colorectal cancer [J]. *Cancer. Sci.*, 2019, **110**: 997-1 011.
- [9] YANG S, ZHU Z, ZHANG X, et al. Idelalisib induces PUMA-dependent apoptosis in colon cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(4): 6 102-6 113.
- [10] CURIGLIANO G, SHAH R R. Safety and tolerability of phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) inhibitors in oncology [J]. *Drug. Saf.*, 2019, **42**: 247-262.
- [11] BOLDEN J E, PEART M J, JOHNSTONE R W. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors [J]. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2006, **5**(9): 769-784.
- [12] JENKE R, REING N, HANSEN F K, et al. Anticancer therapy with HDAC inhibitors: Mechanism-based combination strategies and future perspectives [J]. *Cancers*, 2021, **13**(4): 634-677.
- [13] MA X D, LV X Q, ZHANG J K. Exploiting polypharmacology for improving therapeutic outcome of kinase inhibitors (KIs): An update of recent medicinal chemistry efforts [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, **143**: 449-463.
- [14] BODO J, ZHAO X X, SHARMA A, et al. The phosphatidylinositol 3-kinases (PI3K) inhibitor GS-1101 synergistically potentiates histone deacetylase inhibitor-induced proliferation inhibition and apoptosis through the inactivation of PI3K and extracellular signal-regulated kinase pathways [J]. *Br. J. Haematol.*, 2013, **163**: 72-80.
- [15] REZA B M, TINA S H, NARGES B, et al. Combination therapy in combating cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**: 38 022-38 043.
- [16] TAO Q Q, CHEN Y Q, LIANG X, et al. Structurally novel PI3K δ / γ dual inhibitors characterized by a seven-membered spirocyclic spacer: The SARs investigation and PK evaluation [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2020, **191**: 112-143.
- [17] LI Z, ZHAO C, HE G, et al. Identification of PI3K/HDAC dual-targeted inhibitors with subtype selectivity as potential therapeutic agents against solid tumors: Building HDAC6 potency in a quinazolinone-based PI3K δ -selective template [J]. *Bioorg. Med. Chem.*, 2022, **73**: 117 028.
- [18] ZHANG M M, WEI W, PENG C J, et al. Discovery of novel pyrazolopyrimidine derivatives as potent mTOR/HDAC bi-functional inhibitors via pharmacophore-merging strategy [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2021, **49**: 128 286.
- [19] HE G, LI Z, ZHANG M M, et al. Discovery of selective HDAC6 inhibitors capped by flavonoid or flavonoid-analogous moieties as anti-cancer therapeutics simultaneously harboring anti-proliferative and immunomodulatory activities [J]. *Bioorg. Chem.*, 2022, **129**: 106 146.
- [20] MA X D, WEI J, WANG C, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel benzothiadiazine derivatives as potent PI3K δ -selective inhibitors for treating B-cell-mediated malignancies [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2019, **170**: 112-125.
- [21] WATSON P, MILLARD C, RILEY A, et al. Insights into the activation mechanism of class I HDAC complexes by inositol phosphates [J]. *Nat. Commun.*, 2016, **7**: 11 262.

氨基噻吩取代的 TAE-226 类似物合成与生物活性研究

王庆涛, 饶念, 韦广胜, 徐应, 乐意, 刘力*, 鄢龙家*

(贵州大学 药学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:黏着斑激酶(Focal Adhesion Kinase, FAK)是一种非受体酪氨酸激酶,在胶质瘤中存在过表达现象。因此,以 FAK 为靶点开发治疗胶质瘤的药物引起了广泛研究兴趣。以 TAE-226 为先导化合物,利用生物电子等排原理设计并合成了 21 个含 2-氨基噻吩片段的三嗪类化合物作为新型 FAK 抑制剂。所有的目标化合物结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 确证。随后,采用 MTT 法评价了该系列化合物对人脑恶性星形胶质母瘤细胞 U87-MG 的体外抗肿瘤活性。结果表明,部分化合物表现出较好的抗肿瘤活性,特别是 2-((4-氯-6-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺活性显著优于阳性对照 TAE-226,其 IC_{50} 值为 $1.791 \mu\text{mol/L}$ 。

关键词:氨基;噻吩;三嗪;抗肿瘤;胶质瘤

中图分类号:R739.91 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2023)12-0118-08

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0487

Synthesis and Biological Activity of TAE-226 Analogues Substituted with Amino thiophene WANG Qing-tao, RAO Nian, WEI Guang-sheng, XU Ying, LE Yi, LIU Li*, YAN Long-jia* (School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Focal adhesion kinase (FAK) is a non-receptor tyrosine kinase, which is overexpressed in gliomas. Therefore, the development of drugs targeting FAK for the treatment of glioma has attracted widespread research interest. In this paper, with TAE-226 as the lead compound, 21 triazines containing 2-amino thiophene fragments were designed and synthesized as new FAK inhibitors based on the principle of bioelectronic isoarrangement. The structures of all target compounds were confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR, and HRMS. Subsequently, the *in vitro* anti-tumor activities of these compounds against human brain malignant astroblastoma cell U87-MG *in vitro* were evaluated by MTT method. The results showed that some compounds exhibited good anti-tumor activity, especially 2-((4-((4-([1,4'-bipiperidin]-1'-yl)phenyl)amino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-N-methylthiophene-3-carboxamide, which had significantly better activity than the positive control TAE-226, with an IC_{50} value of $1.791 \mu\text{mol/L}$.

Key words: amino group; thiophene; triazine; antitumor; glioma

胶质瘤是最具侵袭性和致命性的中枢神经系统(CNS)疾病^[1],目前几乎没有合适的治疗方案^[2]。由于胶质瘤的局部侵袭性生长,其发病率和死亡率很高^[3]。根据组织学外观和恶性程度,胶质瘤被世界卫生组织划分为 I ~ IV 级。其中,胶质母细胞瘤为第 IV 级,是最常见和最具侵袭性的神经胶质瘤,没有治疗选择,预后极差^[4]。据统计,约 82% 恶性胶质瘤患者被诊断为胶质母细胞瘤^[5]。手术切除是大多数胶质瘤的主要治疗方法^[6,7],然而约 90% 的肿瘤主要发生在切除边缘,其在大脑中的复发难以避免^[8]。因此开发能很好抑制胶质瘤的药物是小分子靶向抗肿瘤药物研究的迫切任务^[9]。

三嗪化合物是一类含 3 个氮原子的六元杂环化合物,具有广谱生物活性^[10],包括抗肿瘤、抗病毒、抗菌等^[11,12]。近年来,对三嗪类化合物的抗肿瘤活性研究日益活跃,尤其以 1,3,5-三嗪为母

核开发抗肿瘤药物发展迅速^[13]。2013 年,Dao 等^[14]报道了新型二芳胺-1,3,5-三嗪衍生物作为黏着斑激酶(Focal Adhesion Kinase, FAK)抑制剂,评价了该类化合物对 HUVEC 细胞的抗血管生成活性,并进一步研究了该类化合物的抗肿瘤作用机制^[15]。2020 年,Junaid 等^[16]利用早期开发的 3D-QSAR 模型设计了新型二芳基-1,3,5-三嗪-2,4-二胺类化合物。随后,利用 3 种乳腺癌细胞

收稿日期:2023-07-19;网络首发日期:2023-08-31

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 124)。

作者简介:王庆涛(1999-),男,贵州铜仁人,硕士生,主要研究方向为药物化学。

通讯作者:鄢龙家, E-mail: ylj1089@163.com; 刘力, E-mail: lliu2@gzu.edu.cn。

引用本文:王庆涛,饶念,韦广胜,等.氨基噻吩取代的 TAE-226 类似物合成与生物活性研究[J].化学试剂,2023,45(12):118-125。

系(MDA-MB231、SKBR-3 和 MCF-7)进行了抗增殖活性评估。结果表明,该系列化合物对 MDA-MB231 乳腺癌细胞具有选择性抗增殖活性。其中,活性最好的化合物对 MDA-MB231 的 GI_{50} 值为 1 nmol/L。此外,大量研究表明在人母胶质瘤细胞 U87-MG 中,FAK 激酶存在过表达现象。临床研究也证实 FAK 是胶质瘤治疗的重要靶点。然而,文献中关于新型 FAK 抑制剂治疗胶质瘤的

报道较少。生物电子等排原理是经典的先导化合物优化方法,在药物分子的研究中被广泛采用。本文以最早报道的 FAK 抑制剂 TAE-226 为先导化合物,采用生物电子等排原理,将噻啉环替换为三嗪环,同时将噻啉 4 位的氨基苯替换为氨基噻吩,设计并合成了一系列结构新颖的含噻吩片段三嗪类化合物,测试了它们对 U87-MG 细胞的体外抗肿瘤活性。

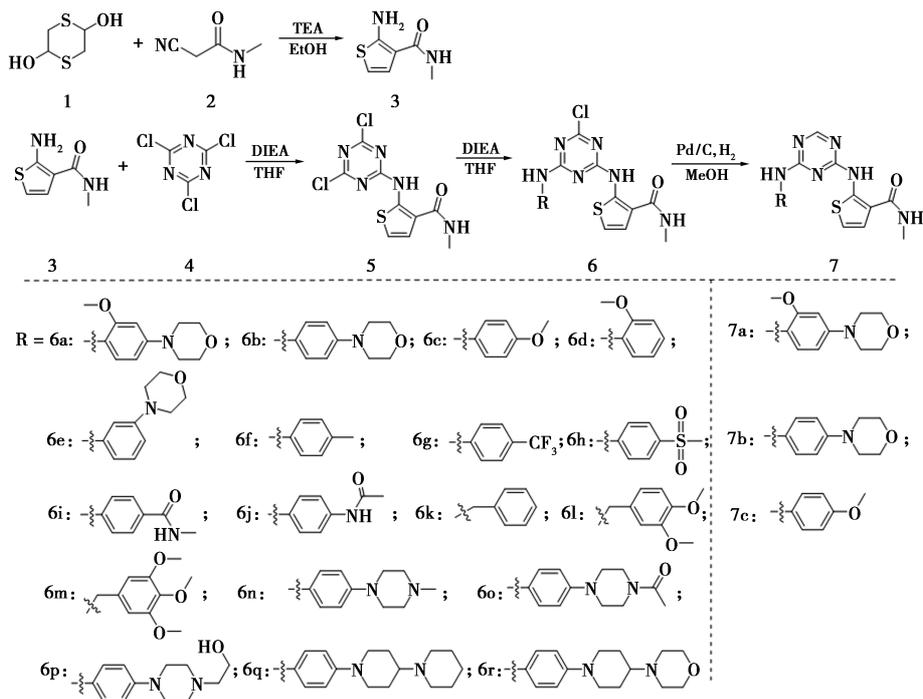


图 1 化合物 6a~6r、7a~7c 合成路线

Fig.1 Synthetic route of compounds 6a~6r, 7a~7c

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Bruker Ascend-400 型核磁共振仪、JEOL ECX-500 型核磁共振仪、TSQ 8000 型高分辨质谱仪(赛默飞世尔科技有限公司);X-4X 型数字显微熔点分析仪(上海微电子科技有限公司)。

1,4-二噻烷-2,5-二醇、2-氨基-N-甲基乙酰胺、2,4,6-三氯-1,3,5-三嗪、三乙胺、多种芳香苯胺、N,N-二异丙基乙胺、四氢呋喃、钯碳(上海安耐吉科技有限公司);石油醚、乙酸乙酯、乙醇、甲醇(贵阳四面体化工有限公司);所有试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

U87-MG 购自中国典型培养物保藏中心,细胞均保存在 RPMI 1640 或 DMEM 完全培养基中。

化合物对 U87-MG 的体外细胞毒性通过 MTT 法测定。

1.3 2-氨基-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(3)的合成

在 250 mL 圆底烧瓶中加入 5 g (32.84 mmol) 1,4-二硫-2,5-二醇(1)、30 mL 乙醇、4.04 g (40 mmol) 三乙胺和 3.32 g (33.84 mmol) 2-氨基-N-甲基乙酰胺(2),在 50 °C 条件下反应 12 h;反应完毕,将反应液减压浓缩,用二氯甲烷打浆,得 4.6 g 白色固体,产率 89.9%,即化合物 3。熔点:146.7 ~ 147.8 °C。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 7.64 (q, 1H, $J = 4.4$ Hz); 7.16 (s, 2H); 7.03 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz); 6.25 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz); 2.68 (d, 3H, $J = 4.4$ Hz)。 $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 166.4, 161.3, 124.5, 107.9, 106.3, 25.9。HRMS: $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 157.040 6

[M⁺, 100]。ESI-MS, m/z : 157.042 9[M+H]⁺。

1.4 2-((4,6-二氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(5)的合成

在250 mL圆底烧瓶中加入1.66 g(9 mmol) 2,4,6-三氯-1,3,5-三嗪(4)、40 mL THF、1 g(7.75 mmol)N,N-二异丙基乙胺(DIEA)和1.44 g(9.85 mmol)化合物3,在-10 °C条件下反应30 min,反应毕,将反应液减压浓缩,用二氯甲烷打浆,得白绿色固体,即2.06 g化合物5,产率85%,熔点:208.1~210.3 °C。¹HNMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 10.82(s, 1H); 8.55(s, 1H); 7.46(d, 1H, $J=6.0$ Hz); 7.04(d, 1H, $J=6.0$ Hz); 2.79(d, 3H, $J=2.8$ Hz)。¹³CNMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz), δ : 165.6, 152.6, 150.38, 145.0, 122.9, 118.6, 116.4, 26.1。HRMS: C₉H₇Cl₂N₃OS([M+H]⁺)。MS, m/z (%): 301.967 6[M⁺, 100]。ESI-MS, m/z : 301.969 0[M+H]⁺。

1.5 化合物6a~6r的合成

将0.3 g(1 mmol)化合物5、6 mL四氢呋喃、0.13 g(1 mmol)N,N-二异丙基乙胺和相应的 x g(1 mmol)芳香苯胺加入到50 mL圆底烧瓶中。将反应缓慢升温至70 °C回流1.5 h(TLC检测)。待反应完成后,将反应混合物减压浓缩,得粉色固体。粗产物通过硅胶柱色谱纯化,得到化合物6a~6r。

1.5.1 2-((4-氯-6-((2-甲氧基-4-吗啉苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6a)

白粉色固体,产率79.3%,熔点:219.7~221.1 °C。¹HNMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 12.06(s, 1H); 9.66(s, 1H); 9.40(d, 1H, $J=25.0$ Hz); 7.34(d, 1H, $J=6.0$ Hz); 7.21(d, 1H, $J=8.8$ Hz); 6.81(d, 1H, $J=5.8$ Hz); 6.66(s, 2H); 6.57(s, 1H); 3.77(s, 3H); 3.18(s, 4H); 3.16(d, 4H, $J=3.8$ Hz); 2.77(s, 3H)。¹³CNMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz), δ : 165.9, 165.7, 161.4, 155.2, 151.9, 146.2, 128.8, 117.7, 117.3, 114.9, 107.0, 106.9, 100.3, 66.6, 55.9, 49.4, 49.0, 26.1。HRMS: C₂₀H₂₂ClN₇O₃S([M+Na]⁺)。MS, m/z (%): 498.106 5[M⁺, 100]。ESI-MS, m/z : 498.108 6[M+H]⁺。

1.5.2 2-((4-氯-6-((4-吗啉苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6b)

白色固体,产率78.1%,熔点:217.9~218.5 °C。

¹HNMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 12.19(s, 1H); 10.38~10.06(m, 1H); 8.41(s, 1H); 7.48(d, 2H, $J=8.4$ Hz); 7.40(s, 1H); 6.99(d, 3H, $J=7.6$ Hz); 3.74(s, 4H); 3.10(s, 4H); 2.79(d, 3H, $J=4.4$ Hz)。¹³CNMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz), δ : 165.9, 164.3, 162.1, 161.7, 148.9, 145.6, 124.3, 123.1, 122.5, 117.3, 115.6, 115.2, 66.6, 49.2, 26.2。HRMS: C₁₉H₂₀ClN₇O₂S([M+H]⁺)。MS, m/z (%): 446.116 0[M⁺, 100]。ESI-MS, m/z : 446.115 7[M+H]⁺。

1.5.3 2-((4-氯-6-((2-甲氧基苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6c)

棕红色固体,产率87.1%,熔点:174.6~175.5 °C。¹HNMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 12.14(s, 1H); 9.81(s, 1H); 8.37(s, 1H); 7.45(d, 1H, $J=7.6$ Hz); 7.33~7.29(m, 2H); 7.12(d, 1H, $J=8.2$ Hz); 7.02(d, 2H, $J=7.6$ Hz); 3.77(s, 3H); 2.78(d, 3H, $J=4.4$ Hz)。¹³CNMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz), δ : 165.9, 165.5, 165.4, 161.4, 150.4, 146.0, 128.1, 125.9, 123.2, 121.3, 120.6, 117.3, 115.1, 112.3, 56.0, 26.1。HRMS: C₁₆H₁₅ClN₆O₂S([M+H]⁺)。MS, m/z (%): 389.059 4[M⁺, 100]。ESI-MS, m/z : 389.060 5[M+H]⁺。

1.5.4 2-((4-氯-6-((4-甲氧基苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6d)

浅棕色固体,产率81.87%,熔点:206.2~207.9 °C。¹HNMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 12.21(s, 1H); 10.33(d, 1H, $J=20.4$ Hz); 8.41(s, 1H); 7.52(t, 2H, $J=10.4$ Hz); 7.40(s, 1H); 6.98(d, 3H, $J=9.2$ Hz); 3.77(d, 3H, $J=7.6$ Hz); 2.79(d, 3H, $J=4.4$ Hz)。¹³CNMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz), δ : 165.9, 165.8, 164.5, 161.7, 146.2, 145.6, 125.0, 123.2, 117.4, 115.2, 114.3, 114.1, 55.7, 26.2。HRMS: C₁₆H₁₅ClN₆O₂S([M+H]⁺)。MS, m/z (%): 391.073 8[M⁺, 100]。ESI-MS, m/z : 391.073 2[M+H]⁺。

1.5.5 2-((4-氯-6-((3-吗啉苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6e)

白色固体,产率76.5%,熔点:216.9~217.5 °C。¹HNMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 12.49(s, 1H); 10.37(s, 1H); 9.24(s, 1H); 8.48(s, 1H); 7.45(s, 1H); 7.22(s, 2H); 7.04(s, 1H); 6.74(d, 1H,

$J=21.2$ Hz); 3.91~3.49 (m, 4H); 3.12 (s, 4H); 2.80 (s, 3H)。 $^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 165.9, 164.5, 163.9, 161.6, 151.8, 146.2, 129.5, 123.4, 123.2, 117.6, 117.5, 115.4, 112.0, 110.7, 66.6, 48.9, 26.1。HRMS: $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ClN}_7\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 444.1016 ($[\text{M}^+, 100]$)。ESI-MS, m/z : 444.1029 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

1.5.6 2-((4-氯-6-(对甲苯基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6f)

黄色固体,产率 80.2%。熔点:214.3~216.5 °C。 $^1\text{HNMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.25 (s, 1H); 10.34 (s, 1H); 8.41 (s, 1H); 7.53 (d, 2H, $J=8.0$ Hz); 7.41 (s, 1H); 7.20 (s, 2H); 7.03 (d, 1H, $J=5.6$ Hz); 2.80 (d, 3H, $J=4.4$ Hz); 2.30 (s, 3H)。 $^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 165.9, 164.4, 161.9, 161.7, 146.2, 145.5, 129.5, 129.3, 123.3, 121.4, 117.4, 115.4, 26.2, 20.9。HRMS: $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{ClN}_6\text{OS}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 373.0645 ($[\text{M}^+, 100]$)。ESI-MS, m/z : 373.0653 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

1.5.7 2-((4-氯-6-((4-(三氟甲基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6g)

白色固体,产率 70.1%,熔点:139.7~141.6 °C。 $^1\text{HNMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.39 (d, 1H, $J=25.2$ Hz); 10.77 (s, 1H); 8.45 (d, 1H, $J=4.8$ Hz); 7.92 (s, 2H); 7.76 (s, 2H); 7.39 (dd, 1H, $J=45.2, 7.2$ Hz); 7.09 (d, 1H, $J=8.8$ Hz); 2.80 (d, 3H, $J=4.4$ Hz)。 $^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 170.5, 165.8, 164.3, 161.6, 142.4, 126.4 (q, $J=12.5, 9.5$ Hz), 123.5, 122.0, 120.8, 119.3, 117.8, 115.8, 114.0, 26.2。HRMS: $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{OS}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 427.0362 ($[\text{M}^+, 100]$)。ESI-MS, m/z : 427.0374 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

1.5.8 2-((4-氯-6-((4-(甲基磺酰基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6h)

白粉色固体,产率:54.8%,熔点:178.2~179.5 °C。 $^1\text{HNMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.42 (d, 1H, $J=28.4$ Hz); 10.84 (d, 1H, $J=15.2$ Hz); 8.46 (d, 1H, $J=4.8$ Hz); 7.95 (d, 4H, $J=12.0$ Hz); 7.45 (d, 1H, $J=6.0$ Hz); 7.14 (d, 1H, $J=5.6$ Hz); 3.21 (s, 3H); 2.81 (d, 3H, $J=4.4$ Hz)。

$^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 167.1, 165.9, 165.7, 161.6, 152.6, 145.1, 128.5, 122.8, 121.8, 120.8, 118.6, 116.3, 44.3, 26.1。HRMS: $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{ClN}_6\text{O}_3\text{S}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 437.0264 ($[\text{M}^+, 100]$)。ESI-MS, m/z : 437.0272 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

1.5.9 2-((4-氯-6-((4-(甲基氨基甲酰基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6i)

黄色固体,产率 71.9%,熔点 > 250 °C。 $^1\text{HNMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.37 (d, 1H, $J=32.8$ Hz); 10.73 (d, 1H, $J=74.4$ Hz); 8.48 (d, 1H, $J=4.8$ Hz); 8.39 (s, 1H); 7.86 (d, 2H, $J=8.0$ Hz); 7.76 (d, 2H, $J=8.4$ Hz); 7.45 (s, 1H); 7.08 (d, 1H, $J=19.2$ Hz); 2.80 (s, 6H)。 $^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 166.6, 165.8, 164.2, 161.7, 146.0, 145.1, 128.1, 123.5, 121.6, 120.2, 118.6, 117.4, 26.7, 26.2。HRMS: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClN}_7\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 416.0703 ($[\text{M}^+, 100]$)。ESI-MS, m/z : 416.0701 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

1.5.10 2-((4-((4-乙酰氨基苯基)氨基)-6-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6j)

白棕色固体,产率 76.7%,熔点:228.9~229.6 °C。 $^1\text{HNMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.25 (d, 1H, $J=12.8$ Hz); 10.36 (s, 1H); 9.95 (s, 1H); 8.42 (d, 1H, $J=4.8$ Hz); 7.56 (d, 4H, $J=12.8$ Hz); 7.42 (d, 1H, $J=5.6$ Hz); 7.01 (s, 1H); 2.80 (d, 3H, $J=4.4$ Hz); 2.05 (s, 3H)。 $^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 168.6, 165.9, 164.4, 161.7, 136.6, 132.7, 123.6, 123.4, 123.2, 121.8, 119.7, 119.6, 115.3, 26.2, 24.4。HRMS: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClN}_7\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 416.0703 ($[\text{M}^+, 100]$)。ESI-MS, m/z : 416.0712 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

1.5.11 2-((4-(苄基氨基)-6-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6k)

白色固体,产率 82.6%,熔点:240.7~241.3 °C。 $^1\text{HNMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.14 (s, 1H); 8.92 (s, 1H); 8.38 (d, 1H, $J=4.8$ Hz); 7.40 (t, 2H, $J=6.4$ Hz); 7.34 (d, 3H, $J=7.2$ Hz); 7.26 (d, 1H, $J=7.2$ Hz); 7.01 (d, 1H, $J=6.0$ Hz); 4.72~4.53 (m, 2H); 2.79 (d, 3H, $J=4.4$ Hz)。 $^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 168.9, 166.0,

165.9, 161.5, 146.0, 139.1, 128.9, 127.8, 127.5, 123.2, 117.5, 115.2, 44.6, 26.2。HRMS: $C_{16}H_{15}ClN_6OS$ ($[M+H]^+$)。MS, m/z (%): 373.064 5 $[M^+, 100]$ 。ESI-MS, m/z : 373.065 6 $[M+H]^+$ 。

1.5.12 2-((4-氯-6-((3,4-二甲氧基苄基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6l)

白色固体,产率 69.1%,熔点:239.7~240.3 °C。¹HNMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.13(s, 1H); 8.97(t, 1H, $J=6.0$ Hz); 8.43(d, 2H, $J=4.8$ Hz); 7.44(d, 1H, $J=6.0$ Hz); 7.16(s, 3H); 7.05(d, 1H, $J=5.6$ Hz); 6.89(s, 1H); 4.62(d, 2H, $J=6.0$ Hz); 3.77~3.75(m, 3H); 3.71(t, 3H, $J=5.6$ Hz); 2.79(d, 3H, $J=4.4$ Hz)。¹³CNMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 168.9, 165.9, 165.8, 161.4, 149.3, 149.1, 131.4, 126.7, 121.9, 120.0, 117.4, 115.2, 113.3, 112.0, 56.0, 42.5, 26.1。HRMS: $C_{18}H_{19}ClN_6O_3S$ ($[M+H]^+$)。MS, m/z (%): 433.085 6 $[M^+, 100]$ 。ESI-MS, m/z : 433.086 9 $[M+H]^+$ 。

1.5.13 2-((4-氯-6-((3,4,5-三甲氧基苄基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6m)

白色固体,产率 64.6%,熔点:244.0~241.2 °C。¹HNMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.13(s, 1H); 8.95(s, 1H); 8.40(s, 1H); 7.43(d, 1H, $J=6.0$ Hz); 7.06(d, 1H, $J=5.6$ Hz); 6.72(d, 2H, $J=33.2$ Hz); 4.63(d, 2H, $J=6.0$ Hz); 3.75(d, 6H, $J=16.4$ Hz); 3.63(d, 3H, $J=6.8$ Hz); 2.79(d, 3H, $J=4.4$ Hz)。¹³CNMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 168.9, 165.9, 161.5, 153.28, 145.9, 137.1, 134.6, 123.3, 117.4, 117.3, 115.2, 105.5, 60.4, 56.3, 45.0, 26.1。HRMS: $C_{19}H_{21}ClN_6O_4S$ ($[M+H]^+$)。MS, m/z (%): 463.096 2 $[M^+, 100]$ 。ESI-MS, m/z : 463.097 7 $[M+H]^+$ 。

1.5.14 2-((4-氯-6-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)苄基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6n)

抹茶色固体,产率 65.2%,熔点 > 250 °C。¹HNMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.68(s, 1H); 9.30(s, 1H); 8.31(s, 1H); 7.57(s, 2H); 7.41(s, 1H); 6.96(d, 3H, $J=30.8$ Hz); 3.95(s, 4H); 3.20(s, 3H); 2.78(s, 3H); 2.45(s, 3H)。

¹³CNMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 166.1, 164.9, 162.8, 161.8, 147.8, 146.9, 123.2, 121.5, 119.2, 116.9, 115.2, 113.3, 57.8, 54.8, 49.5, 26.1。HRMS: $C_{20}H_{23}ClN_8OS$ ($[M+Na]^+$)。MS, m/z (%): 459.147 6 $[M^+, 100]$ 。ESI-MS, m/z : 459.149 6 $[M+H]^+$ 。

1.5.15 2-((4-((4-(4-乙酰哌嗪-1-基)苄基)氨基)-6-氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6o)

浅白粉色固体,产率 75.0%,熔点:244.2~245.7 °C。¹HNMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.21(d, 1H, $J=10.0$ Hz); 10.30(d, 1H, $J=24.4$ Hz); 8.40(s, 1H); 7.63~7.31(m, 3H); 7.01(d, 3H, $J=10.4$ Hz); 3.59(s, 4H); 3.09(s, 4H); 2.79(d, 3H, $J=4.4$ Hz); 2.05(s, 3H)。¹³CNMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 168.7, 165.9, 164.3, 161.7, 148.6, 146.3, 145.6, 124.3, 123.3, 122.5, 117.3, 116.5, 115.2, 49.1, 45.9, 26.2, 21.7。HRMS: $C_{21}H_{23}ClN_8O_2S$ ($[M+Na]^+$)。MS, m/z (%): 509.122 5 $[M^+, 100]$ 。ESI-MS, m/z : 509.124 5 $[M+H]^+$ 。

1.5.16 2-((4-氯-6-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)苄基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6p)

白色固体,产率 44.8%,熔点:220.0~221.3 °C。¹HNMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.20(s, 1H); 10.35~10.00(m, 1H); 8.42(s, 1H); 7.45(s, 3H); 6.97(s, 4H); 3.57(s, 2H); 3.16(s, 4H); 2.79(s, 4H); 2.67(s, 3H); 1.91(s, 2H)。¹³CNMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 172.5, 165.9, 165.8, 164.3, 162.9, 161.7, 124.3, 123.2, 122.5, 117.3, 116.0, 114.1, 53.0, 48.1, 36.3, 26.2, 21.5。HRMS: $C_{21}H_{25}ClN_8O_2S$ ($[M+Na]^+$)。MS, m/z (%): 511.138 2 $[M^+, 100]$ 。ESI-MS, m/z : 511.140 3 $[M+H]^+$ 。

1.5.17 2-((4-氯-6-((4-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)苄基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6q)

白色固体,产率 76.5%,熔点:144.2~144.4 °C。¹HNMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.18(s, 1H); 10.22(s, 1H); 8.43(s, 1H); 7.42(s, 3H); 7.02(s, 1H); 6.95(d, 2H, $J=9.2$ Hz); 3.75~3.67(m, 2H); 2.80(d, 3H, $J=4.4$ Hz); 2.63(s, 2H); 2.47(t, 3H, $J=5.2$ Hz); 2.32(d, 1H, $J=12.4$ Hz);

1.79(d, 2H, $J = 12.0$ Hz); 1.60 ~ 1.51(m, 3H); 1.49(d, 3H, $J = 5.2$ Hz); 1.39(q, 2H, $J = 5.6$ Hz); 1.21(d, 1H, $J = 12.4$ Hz)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 170.8, 168.6, 165.9, 164.4, 161.7, 148.8, 124.5, 123.2, 122.4, 117.3, 116.3, 115.2, 62.2, 50.2, 49.1, 27.7, 26.4, 26.2, 24.9。HRMS: $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{ClN}_8\text{OS}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 525.195 8 [M^+ , 100]。ESI-MS, m/z : 525.197 2 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.5.18 2-((4-氯-6-((4-(4-吗啉皮苷-1-基)苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-3-甲酰胺(6r)

白色固体,产率 72.1%,熔点:236.6~238.2 °C。 ^1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 12.18(s, 1H); 10.25(s, 1H); 8.40(s, 1H); 7.43(d, 3H, $J = 18.4$ Hz); 7.15 ~ 6.83(m, 3H); 3.64(d, 6H, $J = 51.6$ Hz); 3.31(s, 1H); 2.80(s, 5H); 2.66(d, 2H, $J = 13.6$ Hz); 2.49(d, 1H, $J = 12.8$ Hz); 2.26(t, 2H, $J = 10.0$ Hz); 1.55 ~ 1.42(m, 2H)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 165.9, 165.8, 161.7, 148.3, 146.3, 129.8, 128.7, 124.7, 123.2, 122.5, 116.3, 115.2, 67.0, 61.6, 50.0, 48.7, 28.1, 26.2。HRMS: $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{ClN}_8\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 527.175 1 [M^+ , 100]。ESI-MS, m/z : 527.175 0 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.6 化合物 7a~7c 的合成

将 x g(1 mmol) 化合物 6a、6b、6c, 5 mL 四氢呋喃、5 mL 甲醇和 Pd/C 加入到 5 mL 圆底烧瓶中。抽真空, 氢气保护, 反应 72 h(TLC 检测)。待反应完成后, 用硅藻土过滤, 取滤液减压浓缩。粗产物通过硅胶柱色谱法纯化, 得到化合物 7a~7c。

1.6.1 3-((4-((2-甲氧基-4-吗啉苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-2-甲酰胺(7a)

白色固体,产率:17.6%,熔点:178.0~180.1 °C。 ^1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.84(s, 1H); 8.97(s, 1H); 8.29(s, 2H); 7.33(s, 2H); 7.17 ~ 6.35(m, 4H); 3.76(s, 7H); 3.16(d, 4H, $J = 7.2$ Hz); 2.77(s, 3H)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 166.0, 165.1, 163.8, 161.2, 150.4, 123.1, 123.0, 118.6, 118.5, 116.7, 116.6, 114.1, 107.0, 100.3, 66.6, 56.1, 49.3, 26.1; HRMS:

$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$)。MS, m/z (%): 464.147 5 [M^+ , 100]。ESI-MS, m/z : 464.147 3 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.6.2 N-甲基-2-((4-((4-吗啉苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)噻吩-3-甲酰胺(7b)

白色固体,产率 18.2%,熔点 > 250 °C。 ^1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.97(s, 1H); 9.86(s, 1H); 8.34(d, 2H, $J = 4.8$ Hz); 7.52(d, 2H, $J = 8.4$ Hz); 7.39(d, 1H, $J = 5.6$ Hz); 6.96(s, 3H); 3.75(t, 4H, $J = 4.8$ Hz); 3.09(s, 4H); 2.79(d, 3H, $J = 4.4$ Hz)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 174.5, 170.8, 168.6, 166.0, 137.2, 135.8, 127.9, 127.1, 126.2, 121.6, 120.5, 119.1, 71.3, 54.1, 30.9。HRMS: $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 412.155 0 [M^+ , 100]。ESI-MS, m/z : 412.154 6 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.6.3 3-((4-((4-甲氧基苯基)氨基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-N-甲基噻吩-2-甲酰胺(7c)

白色固体,产率 14.9%,熔点:240.9~241.7 °C。 ^1H NMR(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.98(s, 1H); 9.90(s, 1H); 8.34(s, 2H); 7.47(d, 3H, $J = 67.6$ Hz); 6.95(s, 3H); 3.76(s, 3H); 2.79(d, 3H, $J = 4.4$ Hz)。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 100 MHz), δ : 166.9, 166.0, 163.8, 161.2, 156.6, 156.0, 147.1, 145.3, 132.1, 123.1, 116.7, 114.2, 55.7, 26.2。HRMS: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。MS, m/z (%): 355.098 3 [M^+ , 100]。ESI-MS, m/z : 355.098 7 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。

2 结果与讨论

2.1 合成物结构研究

目标化合物 6a~6r 和化合物 7a~7c 的合成路线如图 1 所示。最初, 1,4-二噻烷-2,5-二醇与 2-氰基-N-甲基乙酰胺发生反应, 得到产率为 89.9% 的关键中间体 3。然后, 化合物 4 与化合物 3 在 -10 °C 下发生取代反应, 以产率 85% 得到化合物 5。最后, 以四氢呋喃为溶剂, N,N-二异丙基乙胺(DIEA)作碱, 在 70 °C 回流下, 化合物 5 与相应的芳香苯胺发生取代反应生成化合物 6a~6r, 产率为 44.8%~87.1%。目标化合物 7a~7c 是以化合物 6a、6b、6c 为原料, 以四氢呋喃和甲醇作反应溶剂, 三乙胺作碱, 在氢气和钨碳存在的条件下发生加氢还原反应, 产率为 14.9%~18.2%。

2.2 体外抗肿瘤活性研究

合成了目标化合物 6a~6r 和 7a~7c 后,通过 MTT 法评估了目标化合物对 U87-MG 的抗肿瘤活性^[17],结果如表 1 所示。

表 1 化合物 6a~6r、7a~7c 对 U87-MG 细胞的生长抑制活性^注

Tab.1 Antiproliferative effects of compounds 6a~6r and 7a~7c against U87-MG

Compound	R ¹	R ²	Inhibition Rate/ (%, 10 μmol/L)
6a	Cl	2-OCH ₃ -4-morpholine	25.85±13.48
6b	Cl	4-morpholine	22.29±7.82
6c	Cl	2-OCH ₃	36.10±4.26
6d	Cl	4-OCH ₃	1.11±3.36
6e	Cl	3-morpholine	18.52±0.75
6f	Cl	4-CH ₃	1.50±6.36
6g	Cl	4-CF ₃	20.34±4.69
6h	Cl	4-SO ₂ CH ₃	47.03±8.53
6i	Cl	4-CONHCH ₃	35.36±4.98
6j	Cl	4-NHCOCH ₃	25.18±6.01
6k	Cl	1-benzyl	46.66±2.77
6l	Cl	1-benzyl-3,4-dimethoxy	9.91±1.70
6m	Cl	1-benzyl-3,4,5-trimethoxy	17.73±1.85
6n	Cl	4-(4-methyl)-piperazine	8.42±5.48
6o	Cl	4-(4-acetyl)-piperazine	73.04±2.862
6p	Cl	4-(4-ethyl)-piperazine	40.52±7.11
6q	Cl	4-(4-piperidine) piperidine	99.18±0.52
6r	Cl	4-(4-morpholine) piperidine	57.06±1.42
7a	H	2-OCH ₃ -4-morpholine	10.47±9.23
7b	H	4-morpholine	22.34±2.71
7c	H	4-OCH ₃	43.29±2.32
TAE-226			63.14±1.08

注: The values are mean±SD of three replicates.

从化合物 6a~6r 和 7a~7c 对 U87-MG 的抗肿瘤增殖活性测试结果来看,化合物 6c、6i、6p、7c 在 10 μmol/L 的抑制率分别为 36.10%、35.36%、40.52%、43.29%, 低于阳性 TAE-226; 其中化合物 6o、6q 的抑制率大于阳性对照 TAE-226, 分别为 73.04%、99.18%。特别是 6q 的抑制率远远大于 TAE-226。基于该系列化合物 U87-MG 肿瘤细胞试验的初步结果, 获得了含噻吩片段的三嗪类

FAK 抑制剂简单构效关系。R² 上的取代基位置对化合物活性有影响, 邻位取代优于对位优于间位, 如化合物 6c 的抑制率高于化合物 6d 的抑制率, 化合物 6b 的抑制率高于化合物 6e 的抑制率; R² 上的取代基的个数也会影响化合物的活性, 单取代化合物活性优于多取代优于双取代, 如化合物 6k 的抑制率较好, 化合物的 6m 抑制率次之, 化合物的 6l 抑制率较差; R² 上的取代基有磺酸基、酰胺基等亲水基时, 活性较好, 如化合物 6h 的抑制率高于阳性对照; 此外, 从抑制率较高的化合物 6o、6q、6r 的结构来看, R² 疏水区链较长时, 活性较好。最后, 将化合物 7a~7c 与化合物 6a~6c 相比发现, 两者的抗肿瘤活性相差很小, 说明氯原子对活性影响不大。

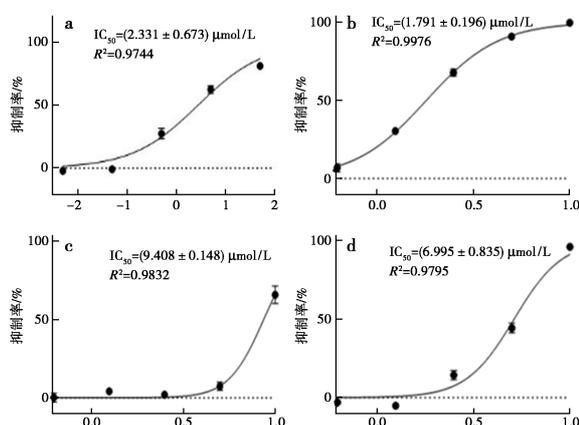


图 2 化合物 TAE-226(a)、化合物 6q(b)、化合物 6r(c)、化合物 6o(d) 的浓度-抑制率曲线
Fig.2 Concentration inhibition curve of compound TAE-226 (a), compound 6q (b), compound 6r (c), compound 6o (d)

随后, 测试了活性较好的化合物 6o、6q、6r 对 U87-MG 肿瘤细胞的 IC₅₀ 值, 每种浓度重复 3 次, 并以 TAE-226 为阳性对照, 结果如图 2 所示。化合物 6o 的 IC₅₀ 值为 6.995 μmol/L, 化合物 6q 为 1.791 μmol/L, 化合物 6r 为 9.408 μmol/L, 而 TAE-226 的 IC₅₀ 值为 2.331 μmol/L。

3 结论

本文合成了一系列新型的含噻吩片段的 1, 3, 5-三嗪衍生物, 并且评价了它们对 U87-MG 细胞的抗肿瘤活性。在 10 μmol/L 作用下, 化合物 6c、6i、6p、7c 抑制率分别为 36.10%、35.36%、40.52%、43.29%, 略低于阳性 TAE-226; 化合物 6o、6q 抑制率大于阳性对照 TAE-226, 分别为

73.04%、99.18%。随后,测试了活性较好的化合物 6o、6q、6r 对肿瘤细胞的 IC₅₀ 值,分别为 6.995、1.791 和 9.408 μmol/L。该设计为三嗪类生物的开发提供了一种新的选择,后续将对化合物 6q 进行进一步的研究。

参考文献:

- [1] LV J, CHEN S, CHEN X, et al. Effect of glioma-derived immunoglobulin on biological function of glioma cells[J]. *Eur. J. Cancer*, 2022, **175**: 86-98.
- [2] WANG Q X, ZHANG P Y, LI Q Q, et al. Challenges for the development of mutant isocitrate dehydrogenases 1 inhibitors to treat glioma[J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2023, **257**: 115-146.
- [3] KARSCHN I A, VOGELBA U M, BENT M V D, et al. Evidence-based recommendations on categories for extent of resection in diffuse glioma[J]. *Eur. J. Cancer*, 2021, **149**: 23-33.
- [4] BHAVYA B, ANAND C R, MADHUSOODANAN U K, et al. To be wild or mutant: Role of isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) and 2-hydroxy glutarate (2-HG) in gliomagenesis and treatment outcome in glioma[J]. *Cell Mol. Neurobiol.*, 2020, **40**(1): 53-63.
- [5] LUTHRA P M, LAL N. Prospective of curcumin, a pleiotropic signalling molecule from *Curcuma longa* in the treatment of Glioblastoma[J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **109**: 23-35.
- [6] SHAH A H, MAHAVADI A, DI L, et al. Survival benefit of lobectomy for glioblastoma: Moving towards radical supramaximal resection[J]. *J. Neuro-Oncol.*, 2020, **148**(3): 501-508.
- [7] LU J, LI R, MU B, et al. Multiple targeted doxorubicin-liposomes modified with *p*-hydroxybenzoic acid and triphenylphosphonium to synergistically treat glioma[J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2022, **230**: 114-123.
- [8] LACROIX M, ABI-SAID D, FOURNEY D R, et al. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: Prognosis, extent of resection, and survival[J]. *J. Neurosurg.*, 2001, **95**(2): 190-198.
- [9] FENG Y, WANG W, ZHANG Y, et al. Synthesis and biological evaluation of celastrol derivatives as potential anti-glioma agents by activating RIP1/RIP3/MLKL pathway to induce necroptosis[J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2022, **229**: 114-127.
- [10] 王健博, 孟晓燕, 张雍鑫, 等. 突变异柠檬酸脱氢酶抑制剂治疗胶质瘤的研究进展[J]. *化学试剂*, 2022, **44**(8): 1118-1127.
- [11] BHAT H R, MASIH A, SHAKYA A, et al. Design, synthesis, anticancer, antibacterial, and antifungal evaluation of 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine derivatives[J]. *J. Heterocyclic. Chem.*, 2020, **57**(1): 390-399.
- [12] NOSOVA E V, LIPUNOVA G N, ZYRYANOV G V, et al. Functionalized 1,3,5-triazine derivatives as components for photo- and electroluminescent materials[J]. *Org. Chem. Front.*, 2022, **9**(23): 6646-6683.
- [13] 饶念, 龙志武, 乐意, 等. 含噻吩片段的三嗪类化合物的合成与抗肿瘤活性研究[J]. *化学试剂*, 2023, **45**(4): 81-90.
- [14] DAO P, JARRAY R, COQ J L, et al. Synthesis of novel diarylamino-1,3,5-triazine derivatives as FAK inhibitors with anti-angiogenic activity[J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, **23**(16): 4552-4556.
- [15] DAO P, JARRAY R, SMITH N, et al. Inhibition of both focal adhesion kinase and fibroblast growth factor receptor 2 pathways induces anti-tumor and anti-angiogenic activities[J]. *Cancer Lett.*, 2014, **348**(1/2): 88-99.
- [16] JUNAID A, LIM F P L, TIEKINK E R T, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of new 6,N(2)-diaryl-1,3,5-triazine-2,4-diamines as anticancer agents selectively targeting triple negative breast cancer cells[J]. *RSC Adv.*, 2020, **10**(43): 25517-25528.
- [17] 鄢龙家, 王琴, 刘力, 等. 含亚胺结构片段的噻唑啉酮衍生物的合成与抗肿瘤活性研究[J]. *化学试剂*, 2022, **44**(1): 52-58.

2024年《化学试剂》期刊征订单

《化学试剂》于1979年创刊,是主要报道化学试剂及相关领域的科技期刊,国内外公开发刊。

《化学试剂》是中文核心期刊、中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊),是《中国科技期刊数据库》《中国学术期刊综合评价数据库》《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊、中国石油和化工行业优秀期刊;是美国化学文摘(CA)主要摘录的千种期刊之一。

《化学试剂》快速报道和介绍化学试剂、精细化学品、专用化学品及相关领域的研究动态、理论知识、科研成果、技术经验、新产品的合成、分离、提纯以及各种测试技术等,及时反映国内外相关领域的发展水平。热情欢迎各界人士订阅本刊。

刊号:CN 11—2135/TQ,ISSN 0258—3283 邮发代号:2-444

国内订阅处:全国各地邮局

国外总发行:中国国际图书贸易总公司 国外代号:M591

定价:40元/期 480元/年

欢迎读者直接与编辑部联系订阅,并将订刊回执回传至编辑部,如需样刊也请与编辑部联系。

编辑部地址:北京市西城区太平街8号院6号楼107室 邮编:100050

电话:(010)58321153,(010)58321793 网址:<https://hxsj.cbpt.cnki.net> E-mail:webmaster@chinareagent.com.cn

订刊回执

单位		收刊人	
邮寄地址		邮编	
联系人		电话	
订刊时间	202__年__期~202__年__期	订阅份数	
电子邮件		寄款金额	

银行汇款方式如下,见款后寄发票

银行汇款:

户名:北京国化精试咨询有限公司

帐号:11171401040002050

开户行:中国农业银行股份有限公司北京朱雀门支行

广告

广告目次

国药集团化学试剂有限公司	封面(彩色)	天津市永大化学试剂有限公司	QC6(彩色)
国药集团化学试剂有限公司	封二(彩色)	天津市康科德科技有限公司	QC7(彩色)
上海馨晟试化工科技有限公司	QC1(彩色)	南京化学试剂股份有限公司	QC8(彩色)
广州国际分析测试及实验室设备展	QC2(彩色)	天津市科密欧化学试剂有限公司	QC9(彩色)
上海阿拉丁生化科技股份有限公司	QC3(彩色)	广东光华科技股份有限公司	QC10(彩色)
上海安谱实验科技股份有限公司	QC4(彩色)	北化试剂	封三(彩色)
江苏强盛功能化学股份有限公司	QC5(彩色)	西陇科学股份有限公司	封底(彩色)

QC:前部彩色广告插页

QD:前部单色广告插页

HC:后部彩色广告插页

HD:后部单色广告插页

2023 年第 45 卷总目次

特约专题

- Piers 硼烷的应用研究进展 谭敬杰, 罗永安, 吴翊乐*, 赵玉芬(1-1)
- 稳定同位素在组学研究及临床诊断中的应用 赵雅梦, 范若宁, 李良君, 刘建军, 罗勇, 赵诚, 雷雯*(3-1)
- 基于快速响应的红色 ONOO⁻ 荧光探针及其细胞成像 张春香*, 张向阳, 申有名, 周紫乐(4-1)
- 新型近红外荧光探针成像细胞肺纤维化过程粘度变化 杨科, 刘莹, 王佩佩, 李宋娇*, 何隆薇*(4-8)
- 过氧化亚硝酸盐(ONOO⁻) 荧光探针研究进展 何璐璐, 田勇琪, 李佳佳, 曾竞*(4-14)
- DNA 模板荧光金属纳米团簇的合成及应用 毛安丽*, 王海波(4-25)
- 响应面法优化 N-乙酰氨基葡萄糖发酵液精制纯化工艺 刘硕, 刘鲁杰, 王永红, 赵黎明*(7-1)
- 新型分离纯化技术在药用蔗糖制备工艺中的应用 王刚, 刘鲁杰, 秦建国, 赵黎明*(7-10)
- 有机溶剂纳滤膜在化学品纯化方面的应用进展 罗立汉, 童奕皓, 贾蕊, 韩蕊, 许振良, 杨虎, 徐孙杰*(7-17)
- 基于金属有机框架的 TiO₂-NiO 高效催化剂构建及光催化产氢性能研究 安阳*, 姜为易, 吕新玲, 王玲玲, 庞欢(8-1)
- 非金属掺杂 g-C₃N₄ 光催化的研究进展 王昊, 陈芳, 张国新*(8-8)
- 阴离子空位调控电解水制氢过渡金属基催化剂的研究进展 马惠, 宋利, 于彦龙*, 李雷*(8-17)
- 纳米泡沫银用于流动池电催化还原 CO₂ 何川, 朱英明*, 薛雨, 吴可荆, 鲁厚芳(8-25)
- 多孔 Cu-CuO/HPTS 复合材料的制备及其光催化性能 胡俊, 葛鑫峰, 王明辉, 舒婷, 梁云霄*(8-32)
- 高分散 Cu/SiO₂ 逆水煤气变换反应催化剂研究 刘宁, 曹忠, 崔莎, 刘辉, 王路辉*(8-40)
- 介孔硅纳米载体应用于肿瘤治疗的研究进展 韩凯硕, 任婷, 李多, 孙国辉, 张娜, 赵丽娇*, 钟儒刚(9-1)
- 离子液体[Bmim] BF₄ 催化合成喹啉类化合物的研究
..... 庞钰琪, 应乐天, 牟硕, 马雪, 陈雪柔, 孙武积*, 钟启迪*(9-11)
- 载亚硝基脲的多功能纳米载体的构建及其评价 韩凯硕, 王小利, 任婷, 李多, 孙国辉, 张娜, 赵丽娇*, 钟儒刚(9-19)
- 硝基还原酶催化硝基咪唑还原机理的密度泛函理论研究
..... 王圣博, 王娇娇, 任婷, 孙国辉, 张娜, 赵丽娇*, 钟儒刚(9-29)
- 近红外光谱结合化学计量学的掺伪杜仲鉴别 胡子康, 刘庭恺, 饶艳敏, 龙婉君, 余远斌, 付海燕*(10-1)
- 紫外-可见光谱传感对高温大曲白酒真实性的准确鉴别
..... 苏媛媛, 姜雪*, 仓义鹏, 朱艳美, 向福双, 陈亨业, 付海燕(10-8)
- 4 种干扰物对中红外光谱血糖检测影响研究 吕亚玲, 张朱珊莹*, 冉康, 岳岩松, 张献文*, 曹汇敏(10-14)

综述与专论

- Cu-MOF 基材料应用研究进展 高春, 王嘉婧, 郭笑天, 李文婷, 张松涛*, 庞欢*(1-12)
- 多肽药物口服给药稳定性研究进展 王彬, 段丛雪, 王珊珊, 陈旺, 冯自立*(1-24)
- 浅谈化学试剂产业的创新发展之路 王刚(1-33)
- 磁性水凝胶的制备及其应用研究进展 董黎明, 陈金雨, 袁源, 王士凡*(2-1)
- 香豆素类杂环化合物的抗微生物活性研究进展 彭莘媚*, 王江河, 贺银菊, 李云萍, 陈汉生, 慈成刚(2-11)
- 天然二氢黄酮醇类化合物及其衍生物的研究进展 刘懿锋, 林汝娟, 周琢强*(2-22)

- 基于柱芳烃的超分子催化研究进展 聂永欣,王繁盛,刘泽恩,屈馨甜,黄雪秋,韦雪琴* (3-10)
- 稀土掺杂上转换纳米材料在农药残留检测中的应用
..... 殷慧,孟颖,彭微,白安琪,李淑荣,罗利霞,冀华*,孟佩俊* (3-22)
- 新烟碱类杀虫剂的研究与开发进展..... 李昌兴,刘东东,高一星,张静,张立新* (3-29)
- 有机催化不对称 aza-Henry 反应研究进展..... 张振伟,黄红萍,谢钰航,陈泳乐,刘帆,邓延秋* (4-34)
- 用于卵巢癌标志物 β -Gal 检测的荧光探针研究进展 张亚涛,何杰芳* (4-43)
- Burgess 试剂在有机合成中的应用新进展 李健,滕大为,曹国锐* (4-52)
- 核酸适配体传感器在血小板衍生生长因子检测中应用进展 杨柳,王乐乐,陶晴,孟娇然,丁敏,李兰英*,刘刚(5-1)
- 基于 BODIPY 的荧光探针检测活性氧的研究进展..... 赖申枝,谢俊英*,李春艳,刘燕,肖洁(5-11)
- 酸致变色染料的应用研究进展 孟德泉,单斌*,谭伟强,马继平(5-21)
- 烯炔配位聚合的链转移反应以及应用 刘照贺(5-33)
- 分子印迹材料在新污染物筛查与识别中的应用 孙大妮,温宇浩,侯铭洋,张悦,宋乐慧,李金花*,刘惠涛*(6-1)
- 多环芳烃和多氯联苯全球芯样沉积记录研究及现状综述 谭新来,武英欣,黄跟平*,邹红艳*(6-11)
- 浅析硫化学应用前景 孟娇龙,姜雪峰*(6-20)
- 靶向细胞器的次氯酸/次氯酸盐的小分子荧光探针研究进展 李林柯,徐俊红,麻秋娟*,朱楠楠,刘淑珍(7-25)
- 四氧化三铁纳米粒子在酶催化领域的应用研究进展 石婧怡,李兆周*,王耀*,陈秀金,牛华伟,李芳,高红丽(7-34)
- HKUST-1(Cu)及其复合材料吸附去除水体污染物的研究进展 李阳,王崇臣*(9-38)
- 酶/功能性框架材料光催化转化 CO₂ 的研究进展 仇逸楠,王宜峰,王燕飞,胡嘉欢,罗希,尹丰伟,付永前*(10-21)
- 有机小分子谷胱甘肽荧光探针研究进展 李娜娜,王振,邢志勇*(10-31)
- 荧光量子点的制备及其在金属离子检测中的应用 万国媛,王思涛,刘智敏,许志刚*(11-1)
- 无机物掺杂 TiO₂ 吸附剂用于水中污染物吸附研究进展..... 黄孝明,陈瑶*,陈国力,韩悦(11-9)
- 淫羊藿素的化学合成和结构修饰研究进展 韦纯永,王艳平,王京*,张磊*(12-1)
- 3-氨基香豆素衍生的荧光探针 张芮,刘学愚,胡云翔,帅林河,赵玉玲*(12-9)
- 磁性石墨烯复合材料的制备及应用研究进展 张阳(12-18)

生化与药用试剂

- 溴代苯酚与牛血清白蛋白的相互作用研究 梁雯洁,蚁嘉颖,张振轩*,杨梦婷*(1-37)
- 刺糖多糖脱色脱蛋白工艺及抗氧化活性研究 陈盈盈,李杰,宋建忠,陈章浩,李改茹,常军民*(1-46)
- 上转换@聚多巴胺纳米光热剂的制备及载药与抗菌性能
..... 陈文雪,靳丹丹,朱良亮,袁善蓉,王浩,俞彬,宫培军*(1-54)
- 查尔酮类化合物抗肿瘤活性研究进展..... 李林博,刘玉肖,樊平平,周淑晶,李进京*(2-33)
- 酪氨酸激酶 2 抑制剂的研究进展..... 姚华良,曾宪霞,张洁,黄怀征,何林洪*(2-43)
- 基于丁酸功能化基团钌化合物的合成及其抗菌活性研究 曾威*,丁云霞,姜雯雯,陈晓燕,荣小娟,马兆霞(2-54)
- 2-(2-氨基苯基)苯并咪唑铂(II)配合物的合成及其与 BSA 作用的光谱研究
..... 袁涛,覃姣兰*,罗翠萍,仇继家,钟雨佳,姚鹏飞(2-62)
- CYP1B1 抑制剂研究进展 王志刚*,费荣杰(2-69)
- 吡啶类抗抑郁药物的研究进展 凌芳*,柯德宏,罗强,许胜(3-37)
- 基于环糊精的刺激响应性药物递送系统..... 唐良健,黄绍德,王繁盛,吕焕能,吴建婷,黄雪秋,韦雪琴*(4-63)
- 紫茎泽兰发酵前后挥发油成分变化及其抑菌活性 刘洋,胡世俊*,张东华,皋玉功,闫晓慧*(4-74)

- 含噻吩片段的三嗪类化合物的合成与抗肿瘤活性研究 饶念,龙志武,乐意,刘力*,鄢龙家*(4-81)
- 手性 Cu_{2-x}Se 纳米材料的制备及其协同抗菌性能研究 施瑶,邓业成*,艾福金*(4-91)
- 三萜类化合物结构修饰及活性研究进展 何诗能,张清,谭珍媛,谢云峰,邱莉,谢集照*(5-41)
- 8-羟基喹啉衍生物镍(II)配合物的合成、晶体结构、抗肿瘤活性及其与 BSA 作用研究
..... 袁涛,覃姣兰*,黄如川,姚鹏飞,范歆晨,谢亚茹(5-51)
- 2-苯基苯并咪唑诱导的线粒体功能障碍 焦元红*,张晓卉,徐娟,潘凌立(5-59)
- 中药糖类上市药物研究进展 王登辉,李欣怡,程国良,叶楚璇,李冰,关永霞,王义忠*,严诗楷,肖雪*(6-26)
- RNA 切割型脱氧核酶功能化纳米材料荧光生物传感研究进展 张宏艳,张瑞中*,张立兵*(6-35)
- 杓橐的化学成分及药理活性研究进展
..... 王文冲,张昊祯,Ishaq Muhammad,徐宇,吴嘉佳,罗巍,李莎莎*,肖雪,严诗楷,金慧子*(6-44)
- 噻洛芬酸衍生物的合成、分子对接及其抗菌活性研究 卫鑫宝,李玉芳,陆思颖,王立升*(7-43)
- 功能型 SiO_2 气凝胶在生物医药领域的研究进展 吕春艳,王文倩,崔闻宇,张文君*,厚晓庆,韩锐(7-51)
- 钕化合物抗微生物应用研究进展 聂鹏*,董睿,许波*(7-57)
- 抗阿尔兹海默症灯盏乙素衍生物设计、合成及活性研究 李慧,何筑,陈娇,李勇军,汤磊*,傅晓钟*(8-47)
- 黄嘌呤衍生物的设计、合成及抗血小板聚集与神经保护活性研究 崔恩静,王宏伟,李家明*,金凡(8-57)
- 2,4-二取代-6-氯三氮唑类化合物的合成及其抗肺癌活性研究
..... 曾宪霞,黄怀征,凌珍,张洁,谭凯丽,石欣武,何林洪*(8-65)
- 还原响应性聚合物纳米胶束的制备及体外评价 李世奎,冯佳敏,刘雪,梁旭华,王学军*(8-72)
- 多功能 ^{19}F 磁共振/CT 成像及光热/化学联合治疗纳米平台用于肿瘤诊疗 李璐,刘怡萌,李楠楠,胡高飞*(9-47)
- 新型 XO 抑制剂的合成及其体外抑制作用探究 高静,李倩,苏虹霞,杨雨茹,唐世行,王月瑶,姜敏*(9-56)
- 基于银纳米颗粒免疫比色法检测甲胎蛋白 张建花*,章志翔,李蓄涵,曹惟嘉,耿佳琦,于成云,阎新宇(10-40)
- 简单 BODIPY 光动力化合物的合成及其抗胶质瘤活性
..... 常婧,杨田田,王淑云,付腊腊,胡芳,王小波*,胡美纯*(10-46)
- 新型鬼臼毒素拼接抗肿瘤活性分子衍生物的合成及抗肺癌活性研究
..... 杨俊,梁玉清,尹彩霞,梁光平*,刘雄伟,刘雄利(10-53)
- 稀有人参皂苷对 CCl_4 所致小鼠急性肝损伤的保护作用 张言,李娜,黄蓉,傅容湛,段志广*,范代娣*(11-18)
- 气囊蛋白基脑胶质瘤靶向诊疗一体化载体构建及其评价 崔雨童,韩佳钺,唐燕琼,马香,李宏,李娟娟,刘柱*(11-25)
- 多光谱法结合分子模拟分析洛索洛芬和金属离子影响三磷酸腺苷对蛋白的作用机制 刘里*,耿来应(11-32)
- 薄荷醇对牛血清蛋白光谱性质的影响研究 宋吉英,于春娣*,曹淑霞,马子媛(11-39)
- 天花粉粗多糖壳聚糖复合水凝胶促进小鼠皮肤伤口愈合
..... 吴燕,寇先勇,王晓姿,刘同,刘馨月,尤祥宇*,苏江涛(12-26)

功能材料

- 共价有机框架材料在药物递送中的应用进展 高嘉,丁宣凯,胡嘉欢,王宜峰,王燕飞,付永前*(1-62)
- 发光金属有机框架材料在环境检测中的研究进展 赵一鸣,谭伟强,关静,李钰杰,马雨欣,柴会宁*(1-75)
- 硫化镉/金属-有机框架复合材料的制备及光催化应用 陈莲芬,凌扬,李耿扬,刘子建,徐晓磊,康健*(1-85)
- 共价有机框架材料 $\text{TpPa-NH}_2\text{-D-(1--)-}\alpha$ -苯甘氨酸用作高效液相色谱手性固定相研究
..... 陈政,禹紫云,段爱红*,刘华林,袁黎明*(1-92)

- $\text{Bi}_2\text{S}_3/\text{BaTiO}_3$ 复合光催化剂的制备及其光催化性能的研究 董玮*, 林莉, 李向阳, 顾怀章, 王雷, 梁春华, 付定梅 (1-99)
- 复合型多金属硝酸盐的合成与应用 赵孟雅, 田璐, 肖禹圣, 王震寰, 刘淑莹, 赵幻希*, 修洋* (2-75)
- 废弃烟滤嘴制备醋酸纤维素微球及其对 $\text{Pb}(\text{II})$ 的吸附性能 陈燕敏*, 刘冰, 赵文伯, 卢鑫, 邵冰琪 (2-83)
- 负载芹菜素壳聚糖凝胶珠的制备及其性能研究 李慧卿*, 曹叶霞, 陈雪涛, 郎悦 (3-47)
- 过渡金属改性 Ce-M-O_x ($\text{M}=\text{Cu}, \text{Co}, \text{Mn}$ 和 Fe) 催化剂在 NH_3 -SCR 反应研究 刘春宇, 宋忠贤, 张学军*, 刘威, 莫杜娟, 刘泽鹏, 李海洋 (3-53)
- 6,7-二羟基香豆素温敏表面分子印迹材料制备及吸附性能 钟海艺*, 罗健伟, 李俊潮, 蔡锦云 (3-61)
- 基于低共熔溶剂的磺胺二甲基嘧啶分子印迹聚合物制备及其性能评价 武曦*, 韩凤燕, 徐欣 (4-99)
- 沸石催化剂上四氢双环戊二烯催化异构 冯汝明, 胡浩杰, 凌芳* (4-106)
- 生物炭对废水中铜离子吸附的研究进展: 改性方法与吸附机制 刘丽, 范世锁*, 梅杨璐 (5-66)
- 基于 AMD 回收的生物炭修饰 LDHs 降解土霉素研究 王新泉, 王进*, 邓锐, 许庆升, 揣新, 张凯, 岳正波 (5-77)
- 响应曲面法优化茶渣生物质炭对土壤氮磷吸附 钱婧, 蔡青松, 黄显怀*, 周肖瑜, 刘英超, 赵金全 (5-85)
- 喹啉羧酸酯与水合肼的反应性凝胶及专一性识别 靳清贤, 张广慧, 刘冬, 朱性堃, 靳清艳, 赵文阁, 肖元化, 方少明* (5-93)
- 用于生物成像的近红外小分子荧光探针的研究进展 钞静静, 王文新, 王之卿, 李春艳* (6-52)
- 纳米纤维素基水凝胶的制备及其在传感器中的应用进展 丁梓译, 金浩天, 马晓帆, 蒋少华*, 段改改* (6-61)
- 荧光分子探针检测甲醛的研究进展 孙萌, 马杰* (7-72)
- 植物还原制备纳米金过程中黄酮类物质的作用、外界影响因素及其应用 刘海*, 王飞, 王毅敏, 宋桃, 柯义虎 (7-78)
- SBA-15 负载咪唑盐离子液体催化剂用于 CO_2 环加成反应的失活机理研究 邓涵, 白诗扬*, 孙继红 (8-79)
- $\text{Cu}_2\text{O}/\text{CuO}$ 复合材料的高效合成及其在葡萄糖检测中的应用 阙永辉, 曹阳*, 陈德伦, 高帆, 赖彩颜, 许永涛, 袁润 (8-87)
- 碳量子点的合成及在爆炸物检测中的应用 张霖, 李宏达* (8-94)
- 静电纺丝法制备氧化铈纳米纤维及光催化性能 李百裕, 周杰*, 陈玲霞, 朱蓓蓓, 王璐, 黄艳芳, 李亚 (8-104)
- 金属有机框架在电化学储能体系中的应用 李傲, 王飞, 黄荣威, 游丹, 张义永*, 李雪*, 张英杰 (9-61)
- Eu-2,5- 二溴对苯二甲酸金属有机框架的合成及其对铈酰离子的荧光识别 张涨展 (9-70)
- 手性金属有机框架材料 $\text{NH}_2\text{-MIL-53}(\text{Al})\text{-D}-(+)\text{-}$ 葡萄糖的液相色谱拆分性能研究 高顺秋, 赖亚琳, 蒋雪菲, 普娜, 袁黎明* (9-76)
- 一种低 pH 响应的新型近红外菁类荧光探针 王筱楠, 胡利明, 孙国辉, 郝振铭, 杨静, 莫善雁* (9-83)
- 木质素无卤素水相催化脱甲基反应及其利用 郑雨欣, 吴可荆*, 朱英明, 吴剑 (9-90)
- 金属有机骨架衍生的钒碳催化剂催化氧化乳酸乙酯制备丙酮酸乙酯 李江*, 王溪梦, 李晨, 张文燕 (10-61)
- 三苯基膦功能化聚酰胺/铈催化烯炔氢甲酰化 张志超, 李璐, 韩双* (10-70)
- 羧甲基纤维素钠凝胶的吸水性能研究 马艳梅*, 苗书颜 (10-77)
- 过氧亚硝基传感检测的荧光探针合成与应用 叶廷秀, 杨林, 罗红元, 翁艳华, 张琳, 蔡玉萍, 陈曦* (11-45)
- 聚乙烯亚胺碳化聚合物点的制备及其对 H_2O_2 的检测 陈阳*, 丁丽丽, 刘辉 (11-51)
- $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ 稀土掺杂上转换纳米材料的制备与条件优化 殷慧, 孟颖, 曲超, 罗利霞, 张凌燕, 李淑荣*, 孟佩俊* (12-33)

葱修饰的四苯乙烯衍生物的合成及发光特性研究 蒋梦忆, 李星, 李艾强, 韩颢* (12-41)

分离提取技术

响应面法优化酶法制备薏苡仁寡糖工艺研究 郑舒怡, 左佳昕, 戴鑫, 高淑娟, 张怡, 卢旭* (2-90)

红毛藻不同乙醇浓度提取物的生物活性及其成分分析

..... 常高萍, 林巧燕, 张敏, 郭佳瑄, 李志朋*, 杜希萍, 姜泽东 (2-98)

酸性低共熔溶剂的理化特性及其与虾青素溶解度的相关性研究 程婉婷, 陈世钰, 贤凤, 胡坤, 高静* (2-106)

响应面法优化毛大丁草总香豆素提取工艺及其抗氧化作用研究 高奇, 李齐激, 杨柳, 杨娟, 孙超* (2-114)

大孔树脂对二醇型、三醇型人参皂苷的纯化研究 王斌, 赵升铭, 袁松竹, 王义, 张美萍, 雷军*, 陈屏* (3-67)

微波协同离子液体[BMIIm]Br 提取茶皂素 喻冬秀*, 叶旅彬, 王秋怡, 黄淑莉, 钟建军 (5-98)

超声-酶法辅助提取青叶胆多酚工艺优化及抗氧化性研究 李汝艳, 杨申明*, 张旗麟, 许斌彬, 王振吉 (5-106)

桉叶油的提取工艺优化及对金黄色葡萄球菌的作用 刘瑞秀, 覃英克, 齐维金, 龙利, 王鲁* (7-87)

苦藜化学成分及抗炎活性研究 杨丽婷, 李博术, 张寒翠, 李琼娣, 贾敬皓, 邱莉, 谢集照* (7-94)

基于红外辐射表面活性剂提取方式及 Box-Behnken 响应面优化当归中阿魏酸的提取工艺

..... 刘珂*, 毕映燕, 李亚楠, 徐成, 何敏, 郭玉梅, 赵鑫 (9-97)

高纯试剂环己烷的提纯方法 田洪旭, 曲健, 倪余文*, 陈吉平 (10-83)

大青叶黄酮化合物的分离纯化及对小鼠运动耐力的影响 翟兆峰*, 王廷宝 (10-88)

3 种类胡萝卜素在低共熔溶剂中的溶解度、稳定性和抗氧化活性

..... 黄慧玲, 李骏熙, 邹婉琳, 冯健峰, 程婉婷, 高静* (11-56)

香紫苏醇发酵液中香紫苏醇的提取与纯化工艺 孙立权*, 郝玉欣, 滕茂浩 (12-48)

微波辅助低共熔溶剂优化橘红花柚皮苷提取工艺及其对黄嘌呤氧化酶抑制活性研究

..... 臧青民, 黄雅曼, 杨瑞清, 王佳蕊, 陈咏涓, 王则寻, 章烨雯* (12-54)

电化学和新能源

石蜡基高热导率相变储能材料的制备 王若钰, 梁斌, 朱英明, 鲁厚芳, 吴可荆* (1-108)

咪唑基化学传感器识别各种阴离子研究进展 温雨柔, 王浩洋, 赵翔, 温雅梅, 纪利春, 赵霜*, 杜玉英* (3-74)

氯霉素电化学传感器检测技术的研究进展 吴贤格, 陈京成, 姚锐洪, 谢春生* (3-85)

银修饰铜纳米阵列用于电催化还原 CO₂ 乔华建, 李天治, 安赛, 刘德宇, 周扬* (4-113)

Ni/CrN 高效电催化剂的制备及其析氢催化性能 胡骏, 梁书芹, 尹宏峰* (5-113)

锂离子电池硅基阳极预锂化研究进展 杨井玉, 侯果林, 静若盈, 荣峻峰* (5-120)

均苯四酸钴铁 MOFs 衍生材料的制备及其锂离子电池性能研究 耿庆帅, 王丽英*, 侯亚平 (5-130)

碳纳米管原生手性电化学传感器应用研究进展 旷文祝, 杨洋, 罗红霞, 朱志伟* (6-69)

自支撑电极电解水制氢应用研究进展 田锦锐, 田浩, 戴佳玮, 杨森森*, 张国新* (6-78)

铁稳定的铂单原子催化选择性加氢反应 尤志鑫, 纪钰霞, 蒋妍, 郎睿*, 吴传德* (7-100)

无定型碳/g-C₃N₄ 制备及其光催化降解四环素性能

..... 陈建军*, 周诗园, 黄雨晨, 尤红歌, 郑添祥, 柴柳青, 赵文伯 (7-107)

聚茜素红-羧基化多壁碳纳米管修饰电极测定花生壳中木犀草素的含量研究

..... 司晓晶, 杨澜, 刘之进, 张灵露, 韩梅* (7-113)

- 焦磷酸铜光催化分解水产氢性能研究 覃彪*, 张影, 唐承性 (9-105)
- 微量氯离子对氧化钨析氧性能的影响 陈安阳, 陶凯, 林贻超* (9-110)
- WO₃/乙炔黑修饰电极检测一滴香中乙基麦芽酚
..... 段禹, 孔大彬, 王德响, 王洪, 李胜男, 胡民康, 张津铭, 杜海军* (9-116)
- 碱金属和稀土金属对 CuFe₈-LDO 催化剂的 CO₂ 加氢反应性能的影响
..... 黄菊, 张志远, 孟影子, 李淳, 郭立升, 张成华, 魏宇学*, 孙松 (10-95)
- MOFs 基电化学传感器及其重金属离子检测应用研究进展
..... 任书芳*, 吕蕊, 王仲来, 曹莉, 郭童, 刘晓航, 冯静 (10-101)
- 基于多金属掺杂的氧化铈阳极的甲烷协助电解水制氢研究 冯华, 章寒冰*, 叶吉超, 胡鑫威, 徐永海 (11-65)
- 碱性氢氧化电催化剂研究进展 王君*, 杨晓丹 (11-71)
- 基于铂@碳球@四氧化三铁/玻碳电极电化学传感器检测双酚 A 的研究 邵征*, 冯奇, 任国艳 (11-81)
- 花状沸石咪唑骨架用于高效电还原二氧化碳 谷建霞*, 贺敬婷 (12-62)

化学品与环境

- 生物炭固定重金属的挑战及潜在负面效应研究 陈晓青, 李亚, 巩冠群* (1-114)
- 二乙烯三胺改性磁性生物炭对 Cr(Ⅵ) 吸附性能研究 杨鑫宇, 张全悦, 武中豪, 张娜, 赵俭波, 胡立兵* (1-122)
- 3-甲醛肟基苯甲酸乙酯的合成及其对部分重金属离子的荧光选择识别 ... 董艳芹, 刘欣宇, 曾展鹏, 彭佩, 王勇* (2-121)
- ZnCuNi-LDHs 的制备及其对 MO 吸附性能研究 李阳, 王泽华, 田慧媛, 李萍, 崔节虎* (2-128)
- MnO_x@Fe₃O₄ 复合材料制备及其对苯酚处理性能研究 高卫民*, 程寒飞, 朱巧红, 冉景 (2-134)
- 空气中甲醛能力验证样品的研究及应用 宁远英, 左泽浩, 张智渊, 孙自杰, 刘涛* (3-94)
- 新型微波辅助-基质分散固相萃取技术结合 HPLC 测定土壤中塑化剂 韩凤燕, 武曦*, 张鑫鑫 (3-100)
- 黄铁矿去除水中 Cr(Ⅵ) 的行为及机理 王小兵, 胡雨晴, 江丽娜, 胡嘉盈, 黄晴晴, 胡月* (3-106)
- 木质素基吸附剂制备及应用研究进展 王超, 冯雪贞, 张海波, 商士斌*, 宋湛谦 (4-120)
- 水滑石基苯酚选择性吸附材料的制备及再生研究
..... 刘炬, 张柏源, 王思阳, 胡惠雯, 杨森森*, 孙智勇*, 蔺存国, 张国新 (4-128)
- 席夫碱荧光探针的合成及其对三价金属的识别 聂梅, 汤静洁, 黎鹏, 温慈恩, 秦健南, 黄冬婷* (5-136)
- 磁性聚吡咯基材料制备及对印染废水中 Cr(Ⅵ) 吸附特性研究 陶冶*, 周文涛 (5-142)
- 己二酸/硫酸掺杂聚苯胺对 Cr(Ⅵ) 的吸附行为 蔡雨晴, 章东雪, 周娇, 周进康*, 孔垂灿, 李玉骏, 刘应科 (5-148)
- 拟过氧化物酶活性纳米传感及其在果蔬农残快检中的应用研究进展 曾雪晴, 陈亨业, 余远斌*, 付海燕* (6-88)
- 气态汞污染防治及测量技术研究进展 周枫然, 张体强, 王德发* (6-97)
- 改性生物炭对水体中氮和磷共去除: 改性方法和吸附机制 王硕, 汪雅茹, 尹通, 刘慧, 范子涵, 范世锁* (7-119)
- 低共熔溶剂在食品质量安全检测中的研究进展 王超, 杨雪, 于照, 李硕, 孙鹏* (7-128)
- 移动式-气相色谱-质谱法-测定环境空气中的 34 种消耗臭氧层物质
..... 荣瑞, 毛卫鸿, 吴淑萍, 詹光, 丁雁鑫, 马乔* (8-111)
- 生物炭材料分散固相萃取环境水中有机氯农药 李睿, 曹月阳, 刘郁枫, 赵汗青*, 赵文婷* (8-116)
- 戊二醛交联的碳点材料对 Pb(Ⅱ) 的吸附性能研究 魏袁, 蔡慧珊, 王淦, 侯永锐, 苏小东, 高小童*, 贾振福* (9-122)
- 二氧化氯降解对二甲苯效能研究 乔怡娜*, 王安隆, 晋日亚, 熊健, 刘娇琴, 贺增弟 (9-128)
- 虚拟模板表面分子印迹聚合物固相萃取噻虫嗪 杜雪, 孙梦圆, 翁娇静, 田园, 陈静, 何娟*, 李华雨* (10-110)

- ZnMnCo-LDHs 的制备及其对磷酸根废水吸附性能研究 崔宝玉, 李阳, 王家花, 崔节虎* (10-117)
- 柴油车尾气 SCR 脱硝催化剂研究进展 郑乐辰, 李祥如, 王靖霏, 訾学红*, 宋丽云, 何洪 (11-88)
- 水热处理对 Cu/SSZ-39 脱硝催化剂性能的影响 岳彦伟, 黄力*, 王素芹, 李金珂, 王虎 (11-98)
- 聚乙烯亚胺改性生物炭对水中甲醛的吸附特性及影响因素研究 赵苏亚, 刘哲, 王永硕, 吕喜凤, 欧明* (12-70)
- 光催化 TiO₂-NaOH 预处理稻秆协同酶法制备葡萄糖研究
..... 潘亮, 毕艳红, 迟永洲, 罗思, 袁向阳, 王朝宇*, 赵祥杰 (12-77)

分析与测试

- 加味桃红四物汤含量测定、指纹图谱以及抗氧化活性研究
..... 张昊祯, 杨爱岗*, 张岩, 吴嘉佳, 陈跃龙, 严诗楷, 金慧子* (1-129)
- 高光谱结合图分割算法快速鉴别不同尺度产地陈皮 张悦, 王游游, 张婷, 覃馥楚, 南铁贵, 杨健, 吕炎杰* (1-136)
- 乳蛋白高效液相色谱检测方法的优化及甘南牦牛乳指纹图谱的建立 张琪玮*, 乔志刚, 葛静微, 马芮萍 (1-144)
- 超高效液相色谱串联质谱法测定葡萄酒中酚酸和酚醛类化合物 马燕玲, 王一名, 初坤, 陈晨, 吴帅* (2-141)
- 一测多评法测定黑果小檗果实中 5 种花色苷含量 陈玲, 包海燕, 阳莹, 李敏, 李慧敏, 康莹莹, 李建光* (2-148)
- 红外光谱结合化学计量学鉴别西红花的产地 王巧, 熊丰, 王游游, 张雯, 杨健* (3-112)
- 微波消解-ICP-OES 法测定电子级硼铝掺杂源中多种金属元素 孟宪冬, 王连旺, 孟蓉* (3-120)
- 高效液相色谱-串联质谱法测定人血清中 5 种抗真菌药物及相关代谢产物的测量方法
..... 阎娜, 于晓燕, 陈武炼* (3-126)
- 刺梨果汁类产品品质分析与综合评价 王红林, 解璞, 尚雪英, 王梦柳, 宁祎, 罗会, 陈健* (3-132)
- 有机磷农药检测方法研究及进展 王志刚*, 费荣杰 (3-141)
- 高效液相色谱-串联质谱法测定油菜籽和亚麻籽中 16 种真菌毒素 孙利东, 王震, 刘贺, 鲁婷婷, 姜婷婷* (4-136)
- 碳纳米点荧光探针高效检测 α -葡萄糖苷酶 赵丹, 黄晶晶*, 王燕敏, 马道 (5-155)
- 正丁醇-盐酸法测定花生红衣中原花青素的方法优化 何晓勇*, 王璇, 郭楠楠, 尚雪可 (5-162)
- 近红外光谱分析中的化学计量学方法进展 陈瀑, 戴嘉伟, 李敬岩, 许育鹏, 刘丹, 褚小立* (6-105)
- 亲水性可切换溶剂在样品前处理与检测技术中的应用研究进展 王豫东, 尚宇瀚, 薛宏宇, 马强* (6-113)
- QuEChERS 联合 LC-MS/MS 测定土壤及蚯蚓中吡虫啉及异丙甲草胺 13 种代谢产物
..... 符芙蓉, 赵丽霞, 李晓晶, 叶会科, 孙扬*, 李永涛 (7-136)
- 一种基于高分辨液质联用仪的 ¹³C 标记葡萄糖同位素丰度检测方法
..... 范若宁, 赵雅梦*, 王储尧, 廖望, 解龙, 赵诚, 罗勇, 雷雯* (8-122)
- 基于高效液相色谱-电雾式检测器的全氟磺酸盐响应规律与校准方法研究 陈日安, 高燕*, 初红涛, 张庆合* (9-134)
- 表面印迹微球的制备及对降压茶中添加物检测 赖申枝, 谢俊英*, 易容, 张桂文 (9-140)
- 表面等离子共振传感器在食品真菌毒素检测中的应用 姜婷婷*, 王淦, 闫枫蕾, 温华蔚, 章骅, 张宏宇, 马兴 (10-124)
- 高压密闭消解-ICP-AES 法在农产品分析 8 种元素中的应用 袁润蕾*, 于亚辉, 胡家祯, 刘春霞 (10-132)
- 加速溶剂同步萃取-气相色谱-串联三重四极杆质谱法测定香辛料中有机磷类农药残留
..... 曾秋霞, 黄敏兴*, 刘泽槟, 高裕锋, 王桂华, 陈晓初 (11-104)
- 基于高密度低共熔溶剂的分散液液微萃取 于洋, 陈小雅, 丁夕格, 葛丹丹*, 王颖臻 (11-111)
- 基于多指标定量指纹图谱和化学计量学的淫羊藿质量标准提高研究
..... 孙礼堂, 刘明川, 曹健, 宋彤彤, Jennifer Alfrey, 李敏杰* (11-117)

- 埃洛石基分子印迹荧光传感器检测罗丹明 6G 王天聪,李媛媛*,李皓文,刘刚,张铭亮,相皓浣,何娟(12-84)
- 黄芪中主要成分含量测定及其抗氧化活性研究 孙宇,陈雪,唐守祥,张微,张海鹏,单春光,刘韩*(12-90)
- 重铬酸钾滴定法测定水稻土中有机碳 刘春霞*,于亚辉,李艳华,张芳,袁润蕾,申硕果,吴娣(12-98)

标准物质与标准品

- 机动车排放监测用四元气体标准物质的研制 张体强,胡树国,周枫然,杨扬仲夫,冯和平,刘智勇,王德发*(1-150)
- 纳摩尔级一氧化氮标准气体的制备技术研究 高冰,王帅斌,杨静,封跃鹏,倪才倩*(2-155)
- 近十年定量核磁共振法应用研究进展 黄挺*,王静羽,张伟,万康妮(6-123)
- 电解质分析仪用系列混合溶液标准物质的研制 张鹏辉,罗婷婷,司升玲,张蒙,张惠,刘季业,杨嘉伟*(8-127)
- 电解质分析仪用标准物质原料纯度定值研究 罗婷婷,张鹏辉,张惠,袁娇阳,司升玲,张蒙,杨嘉伟*(12-104)

合成与工艺技术

- 聚芳硫醚新型中间体 4-(苯硫基)苯甲亚砷(PSO)的合成 吴炳辉,马晓明,陈康,刘建武,严生虎,张跃*(1-157)
- 离子液体催化合成嘧啶氨基酸酯类化合物 李熹,李渺,魏娟,柏松*(1-163)
- 磷酰化苯并咪唑[2,1-*a*]并异喹啉衍生物的合成 唐裕才*,黎敏,杨梦娜,黄鸿鑫(1-169)
- 高纯二水合连四硫酸钠的制备及其表征 刘红梅*,谷芳芳,王保全,李炳华,杜荣光,陈勉彬(2-161)
- 氯铝酸盐离子液体催化二叔丁基萘的合成研究 武虎建,王琪,张晓昕,王涛*(3-148)
- TMSN₃/NfF:一种有机胺叠氮化试剂的制备和应用 石磊,刘慧丽,孙自强,任德豪,赵媛媛,郑钧,刘义*(3-154)
- 阿伐那非合成中的工艺杂质分析 孙允凯*,赵梦梦,吴小霞,禹曾达,刘钊(3-160)
- 硼酸树脂的制备及其催化 Biginelli 反应性能研究 李文静,蔡楠,周宇涵*(4-144)
- 二价铜催化下的硝酸铵对酚类化合物的单硝化反应研究 罗茂,陈森,付效禹,徐泽锋,朱锦桃*(4-152)
- 异补骨脂素酰胺类化合物的合成及其 AKR1C3 抑制活性 孙明娜,江晓怡,曾思莹,黄萍,郑雪花,刘欢,张超*(4-160)
- 粉体高纯偏磷酸铝的制备及表征 刘红梅*,谷芳芳,王保全,李炳华,杜荣光,陈勉彬(4-167)
- 活性化合物泽兰素的合成研究进展 陈振羽,王金强,徐文静,郭骥,邹坤,曹燕来*,黄年玉*(6-131)
- 水飞蓟宾 C-3 位衍生物的设计、合成及抗肿瘤活性研究 刘家越,李学城,赵凤菊,霍荣迪,孟艳秋*(7-144)
- [5+1]串联反应构建螺[环己酮-吡啶啉酮]骨架的研究 陈治明(7-152)
- 可见光促进的镍催化苄位 C—H 胺化反应研究 周少方,凌芳*,丁海全(8-136)
- 吡咯并吡咯衍生物的合成及光化学性质研究
..... 刘玉坤,王磊,张安,张清清,王乃晴,马瑛,贺彩莲,刘炳炆,陈瑜*(8-145)
- 稳定同位素标记氯霉素-D₅ 的合成及表征 汪榕,郭会,陈武炼*(8-152)
- 3-吡啶甲醛类衍生物的微通道反应器合成研究 柯德宏,张文,吴孝兰,颜轲,许胜*(9-146)
- 苯磺酰氨基氧膦酸类脲酶抑制剂的合成及活性研究 赵明明*,刘妹玲,肖竹平(9-154)
- 吡咯烷-2-酮化合物的合成 李金辉,赵敏*,陈建中*(10-138)
- 简单高效合成缩丙酮保护的 N-保护的左旋多巴衍生物 徐鹏舒,李如雯,谢树英,高磊,刘中强*(10-149)
- 电催化合成 1,2-二硼化合物的研究 贾智棋,张亚会,宋艳玲*,卿光焱*(11-126)
- 新型吡啶并[3,4-*d*]嘧啶-4-酮类 PDE5 抑制剂的合成及其活性研究 朱玉岚,刘玉乾,黄险峰*(11-134)
- 新型喹啉酮类衍生物的设计、合成与体外抗肿瘤活性评价 赵灿,李志,马晓东*(12-112)
- 氨基噻吩取代的 TAE-226 类似物合成与生物活性研究 王庆涛,饶念,韦广胜,徐应,乐意,刘力*,鄢龙家*(12-118)