

半菁荧光染料在基础化学综合创新实验教学中的应用实践

焦泽洋 吴丽颖 郎云贺*

华北理工大学

DOI:10.12238/mef.v8i11.14815

[摘要] 针对传统化学实验教学中的内容碎片化、前沿性不足及学科交叉薄弱等问题,将新型有机荧光染料—半菁荧光探针引入综合创新实验教学体系。半菁荧光染料具有合成简单、光学性能可调控,在分析检测、生物成像等领域具有重要应用。本文基于半菁荧光染料的特性,系统探索其在综合实验教学中的应用方案。设计“染料合成→光谱表征→分析检测”三阶模块,通过两步合成半菁荧光染料,应用薄层色谱检测反应过程,结合紫外-可见光谱与荧光光谱分析检测性能。可设计重金属离子、硫化氢气体等荧光传感。通过实验与“科研反哺”教学,将基础理论(亲核取代反应、光物理机制)与前沿研究(生物成像、肿瘤标志物检测)有机融合,以提高学生的综合应用能力,为化学或相关专业综合创新实验提供了可推广范式。

[关键词] 有机化学教学; 半菁荧光染料; 光谱仪器分析; 教学案例

中图分类号: G42 文献标识码: A

Practical Application of Hemicyanine Fluorescent Dyes in Comprehensive Innovative Experimental Teaching of Chemistry

Zeyang Jiao Liying Wu Yunhe Lang*

North China University of Science and Technology

[Abstract] To address the issues in traditional chemical experiment teaching, such as fragmented content, insufficient cutting-edge relevance, and weak interdisciplinary integration, this study introduces a new type of organic fluorescent dye—hemicyanine fluorescent probes—into the comprehensive innovative experimental teaching system. Hemicyanine dyes feature simple synthesis, adjustable optical properties, and significant applications in fields like analytical detection and bioimaging. Based on the characteristics of hemicyanine dyes, this paper systematically explores their application schemes in comprehensive experimental teaching. A three-stage module of "dye synthesis → spectral characterization → analytical detection" is designed. Specifically, hemicyanine dyes are synthesized via a two-step process, with thin-layer chromatography (TLC) used to monitor the reaction progress, and ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy and fluorescence spectroscopy combined to analyze their detection performance. Additionally, fluorescent sensing experiments for heavy metal ions, hydrogen sulfide gas, etc., can be designed. Through the integration of experiments and "research-feeding-teaching" mode, basic theories (e.g., nucleophilic substitution reactions, photophysical mechanisms) are organically combined with cutting-edge research (e.g., bioimaging, tumor marker detection), aiming to enhance students' comprehensive application abilities. This provides a promotable paradigm for comprehensive innovative experiments in chemistry and related disciplines.

[Key words] Organic Chemistry Teaching; Hemicyanine Fluorescent Dyes; Spectral Instrument Analysis; Teaching Cases

引言

近年来,半菁荧光染料因其结构简单、易于通过侧链对结构进行修饰,调节其光学和化学性质而备受关注。半菁荧光染料是由菁染料衍生而来,其与对称型的菁染料相比,结构简单使得合成难度低且产率高。此外,具有较大的斯托克斯位移,避免自吸

收感染,在金属离子检测、生物成像、食品监测等方面具有重要应用。半菁荧光染料的结构通式见图1,结构左侧一般为带正电荷的含氮杂环,如苯并噻唑、吲哚等,右侧为具有给电子形式的苯酚、苯氧基等,中间通过共轭双键相连,形成典型的电子供体-π-电子受体(D-π-A)体系。其易修饰位点为R1、R2。

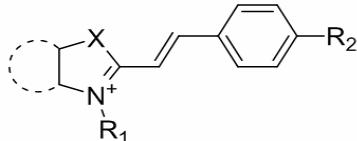


图1 半菁荧光染料结构通式

1 半菁荧光染料的荧光特性与教学价值

从半菁荧光染料的结构分析,其具有大 π 共轭结构,因此在紫外-可见吸收光谱表现明显的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁,并由于共轭体系的增大,使得该跃迁的吸收峰值红移至可见吸收波段。此外,D- π -A体系,具有典型的分子内电荷转移(ICT)特点,表现特征荧光发射。分子结构中间的氮正(N⁺)容易受亲核试剂的进攻,发生典型的迈克尔加成反应,破坏D- π -A体系,抑制ICT过程,从而引起光谱性质的变化。据此,能够实现如亚硫酸氢根等带有亲核性物质的检测。半菁荧光染料在溶剂环境中,能够通过氢键、 π 键等非共价键作用,溶剂的粘度、极性等物理参数影响其非共价键作用,表现为吸收光谱、荧光光谱的红/蓝移或强度的变化,实现有机溶剂中水溶剂的检测等。通过对R1、R2进行修饰,能够用于次氯酸、NADH等生物标志物的检测,在生物成像、肿瘤标志物检测中具有重要应用。

将半菁荧光染料引入到本科教学中,合理性体现在:分子设计简洁精巧,合成方便,性能优良;光谱仪器简单、操作紧凑、课时要求较短,适于在化学或相关专业的本科实验教学中推广;染料的光谱变化通常伴随溶液颜色变化,用肉眼即可观察且清晰明显,将抽象具体化,在欣赏化学之美的同时直观感受化学反应和检测原理。综上,该实验设计可弥补现有教学中相对陈旧的缺点,增强本科生综合运用与巩固所学习的理论知识的能力,激发学生科研兴趣,培养开拓创新精神,提升学生的综合素质。

1.1 半菁荧光染料的检测原理。半菁荧光染料的检测原理基于分析物对其吸收光谱、荧光光谱性质的影响。半菁荧光染料对环境(如溶剂极性、粘度)具有敏感性,变现为溶剂变色现象。在常见的溶剂当中,水溶剂极性最大。如Chang等^[1]设计了一种7-香豆素衍生的花菁染料,具有负溶剂化现象,随溶剂极性增强,吸收光谱蓝移。水分含量低于5%的区域表现出明显的溶剂变色行为。这主要是基于 $\pi - \pi$ 相互作用、氢键、疏水等非共价键作用对半菁荧光染料在溶液中的存在形式决定的。

第二种常见检测原理为破坏共轭体系,抑制分子内电荷转移过程(ICT),最终导致荧光猝灭。当荧光物质吸收特定波长的光子时,其电子从基态(S₀)跃迁至激发态(S₁)。由于激发态的不稳定性,电子通过辐射弛豫返回基态,释放能量并以荧光形式发射(S₁→S₀)。荧光是相较于紫外-可见吸收光谱检测灵敏度,是现代分析化学的重要检测工具,通过分子识别基团与目标物的特异性结合或反应,触发荧光信号变化(如强度、波长或寿命),从而实现目标物的定性与定量分析。半菁荧光染料通过典型的迈克尔加成反应、氧化/还原反应等实现分析物的检测。

1.2 半菁荧光染料的应用。在生物分析物检测方面,主要包

括氨基酸、核酸、过氧化物(如过氧亚硝酸盐)、次氯酸的检测。Qi等^[2]设计并合成一种近红外半菁荧光染料荧光探针,通过蓝色、红色双通道荧光成像监测活细胞中的粘度、极性、羧酸酯酶等指标,实现癌症细胞与正常细胞的区分,具有良好的鉴定活肝细胞的潜力,在临床医学诊断等具有重要应用。Zhang等^[3]合成的荧光染料AO,通过双发射通道实现对过氧亚硝酸根(ONOO⁻)和粘度的双响应。荧光强度信号分别在645nm和710nm,并根据粘度和ONOO⁻浓度呈现规律性变化,具有高灵敏度与高选择性。进一步将其用于糖尿病模型中,通过糖尿病模型中的和粘度水平评估糖尿病情况。

在环境分析与食品检测方面,主要包括有机胺、硫化氢等气体的检测。Pillai^[4]等设计一种以4-羟基苯部分作为供体的半菁荧光染料,该染料能够感应液态和气态氨,实现了细菌生长的标志物氨的演变过程的检测,对细菌生长和食品新鲜度提供测试方法。Liang^[5]等合成了四种检测氰化物阴离子的半菁荧光染料。根据光物理性质和对氰化物阴离子识别性质研究发现,对于含有羟基的化合物识别机理为分子内氢键作用;无羟基的化合物,氰化物阴离子能够通过亲核加成与共轭桥中的碳碳双键进行反应,并诱导氮正离子转变为中性,导致荧光猝灭。

半菁荧光染料的应用覆盖了从基础研究到实际生产的多个领域,其结构的可修饰性使其能够根据不同需求进行性能调控,而优异的光学特性和生物相容性进一步拓展了其在高精度检测、可视化成像及功能材料开发中的潜力。随着研究的深入,半菁荧光染料在跨学科领域的应用将持续拓展,为解决实际问题提供创新方案。

2 实验教学设计

2.1 半菁荧光染料合成实验。合成参照本学校某课题组已报道的方法^[6]。第一步,以含氮杂环与碘乙烷为原料,在含氮杂环上引入乙基,以形成含氮正离子中间体;第二步,三乙胺和甲醇为溶剂,与能够作为电子共同的结构,如含特定甲氧基取代的苯甲醛结构进行缩合反应得到最终产物,半菁荧光染料的结构见图2,命名为M1。一般该产率>70%。

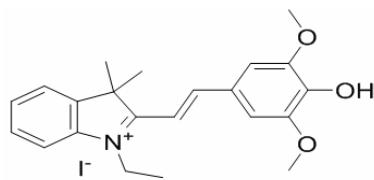


图2 半菁荧光染料M1

在本科教学中,锻炼学生有机合成的基本操作,如冷凝回流、抽滤、离心等。在反应过程中,学生可利用薄层色谱(TLC)监测反应。

2.2 半菁荧光染料M1的性能测试。半菁荧光染料的分析应用实验可围绕有机溶剂中水分的含量展开,重点训练学生的仪器操作与数据分析能力。

有机溶剂中的微量水分对有机合成效率具有重要影响。在

设计本科实验中,我们选取水溶剂与价格低廉的甲醇溶剂,研究不同比例甲醇/水对半菁荧光染料M1的紫外-可见吸收光谱、荧光光谱的影响,并建立不同比例甲醇/水标准曲线,计算检出限LOD。部分实验结果见图3。此外,后续可扩充与药物分析、肿瘤标志物等相关的检测分析。

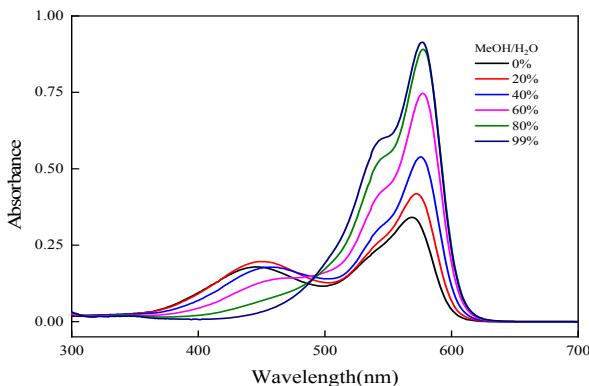


图3 M1甲醇/水调控聚集体实验

3 教学实施关键点

3.1 课程衔接与课时设计。实验内容前沿,知识丰富具有探究性、综合和交叉,涉及有机合成、分析化学与仪器分析交叉应用,贯穿分子设计至检测全流程,衔接前沿与教学。前期需要准备有机化学中化合物取代、缩合、亲核加成等原理知识,并掌握薄层色谱板的制备及原理;在仪器分析课程中覆盖紫外-可见吸收光谱原理、荧光光谱原理;在分析化学课程中涉及标准曲线的绘制、检出限的定义及计算方法。

该实验可设计10学时的综合实验,基础合成实验,包括染料的合成与纯化,占6学时;性能检测实验占4学时,主要包括缓冲溶液的配置、染料的配置与样品配置过程,样品检测过程及数据处理。此外,鼓励学生对实验过程中溶剂颜色进行拍照记录,通过颜色变化实现分析物检测,提高学生的学习激情。

3.2 多维评价体系。(1)基础操作评价:在物质的合成方面,熟悉半菁荧光染料合成中的缩合反应、三乙胺作为催化剂的作用,对课本知识进一步巩固和提高。(2)产物的提纯与分离:在产品的分离提纯和结构表征上,巩固常规分离和提纯操作,进一步熟悉重结晶、离心、薄层色谱等操作,并课后解析核磁共振谱图。为未来进一步的学习和职业生涯打下基础。(3)数据分析能力:熟悉紫外-可见光谱和荧光光谱的检测方法,掌握检出限的计算方法。将有机化学和分析化学、仪器分析有机结合;将仪器分析中的定量分析理论方法进行实际运用。(4)团队协作能力:在综合实验中承担不同变量任务。

4 教学展望

半菁荧光染料实验教学不应局限于传统的分析框架,结合“两性一度”、“科研反哺”等,将前沿研究与基础实验进行融合。在染料的设计上,设计近红外荧光染料、高荧光量子产率或水溶解性的新型染料,提高合成方法与工艺流程。在半菁荧光染料的设计上,不应仅局限于有机溶剂中水含量的检测,在教学过程中

应讲解其在生物检测、金属离子检测、粘度等多方面的检测,在后续教学过程中,可设计双刺激性响应半菁荧光染料探针;在跨学科项目上,可设计水体重金属污染物的检测,用于环境分析,设计肿瘤标志物的检测探针,应用于生物医学。

5 结论

半菁荧光染料在化学实验教学中的整合,突破了传统实验的局限,通过“合成→表征→分析应用”的全链条设计,培养学生贯通有机化学、分析化学、仪器分析等课程的系统思维和创新能力。随着染料技术的持续发展,实验内容可不断迭代更新,使学生始终接触前沿科学工具。这种以功能有机分子驱动的教学模式,不仅提升了实验课程的吸引力,更为新工科背景下复合型分析人才的培养提供了有效路径。

【基金项目】

华北理工大学2023教育教学改革研究与实践项目:线上课程知识图谱的构建与应用——以有机化学理论和实验课为例(ZJ2315)。

【参考文献】

[1] Cha S Y, Choi M G, Jeon H R, et al. Negative solvatochromism of merocyanine dyes: Application as water content probes for organic solvents[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2011, 157(1), 14–18.

[2] Qi Y L, Wang H R, Chen L L, et al. Multifunctional fluorescent probe for simultaneously detecting microviscosity, micro polarity, and carboxylesterases and its application in bioimaging[J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(11): 4594–4601.

[3] Zhang J Z, Gong S Y, Liu Y J, et al. Simultaneous detection of peroxynitrite and viscosity in diabetes by a dual response fluorescent probe[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2024, 406: 135432.

[4] Hari P P M, Pillai A, Rangarajan M, et al. Hemicyanine dye sensor for aqueous ammonia detection: A breakthrough in monitoring microbial growth, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy[J]. 2025, 126557, <https://doi.org/10.1016/j.saa.2025.126557>.

[5] Liang M H, Wang K N, Guan R F, et al. Several hemicyanine dyes as fluorescence chemosensors for cyanide anions[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2016, 160, 34–38.

[6] Zhang B Y, Zhang X F, Ma X Y, et al. Design and Screening of Fluorescent Probes Based upon Hemicyanine Dyes to Sensitive Respond to HS03⁻ in Living Cells[J]. The Journal of Organic Chemistry, 88(16): 9959–9967.

【通讯作者】

郎云贺(1993--),女,汉族,河北保定人,博士,讲师,主要从事有机荧光探针的合成及生物分析研究。