

荧光标识丙烯酰胺单体的合成

郭睿威, 金启明, 戚桂村, 吴大成
(天津大学化工学院, 天津 300072)

摘要:以邻氨基苯酚、对氨基苯甲酸和丙烯酰氯为原料, 以多聚磷酸为脱水剂、三乙胺为脱酸剂, 研制了一种新的荧光丙烯酰胺单体 *N*-[4-(苯并■唑-2-)-苯基]丙烯酰胺(BPAA)。采用红外分析、核磁分析、紫外吸收、双键含量测定等方法对 BPAA 的结构进行了分析和确定, 采用荧光测试对该荧光单体的荧光性能进行了研究。结果表明 BPAA 具有很强的荧光强度, 而且其荧光性能对环境的敏感性较低。

关键词:荧光单体; 苯并■唑; 丙烯酰胺; 荧光性

中图分类号: TQ327

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2005)02-0034-03

Synthesis of fluorescent-labelled acrylamide monomer

GUO Rui-wei, JIN Qi-ming, QI Gui-cun, WU Da-cheng

(College of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: A novel fluorescent acrylamide monomer, *N*-(4-benzoxazol-2-yl-phenyl)-acrylamide (BPAA), was prepared from *o*-aminophenol, *p*-aminobenzoic acid and acryloyl chloride, with polyphosphoric acid as dehydrating agent and triethylamine as deacidification agent. BPAA was characterized by using infra-red spectrum, ¹H nuclear magnetic resonance, ultraviolet absorption spectrum, double bond measurement and fluorescent spectrum. The results showed that BPAA had a strong fluorescence intensity and the fluorescence property of BPAA had small sensitivity to circumstances.

Key words: fluorescent monomer; benzoxazole; acrylamide; fluorescence

荧光分析技术具有灵敏度高、选择性高、重现性好和方便快捷等优点^[1], 被广泛地用于聚合物的微观结构探测和微量物质的定量分析(如荧光探针、示踪剂)等领域^[2-3]。采用荧光标识单体共聚法可以方便地实现聚合物的荧光标识^[3], 苯并■唑基衍生物具有高紫外吸收率、高荧光发射效率^[4-5]以及光物理性能的稳定性, 使其特别适用于作为荧光标识基团制备浓度示踪剂。笔者以多聚磷酸(PPA)为脱水剂, 邻氨基苯酚和对氨基苯甲酸脱水成环合成4-(苯并■唑基-2-)-苯胺(BPA), BPA再与丙烯酰氯反应合成 *N*-[4-(苯并■唑-2-)-苯基]丙烯酰胺(BPAA), 并对其荧光性能进行了研究。

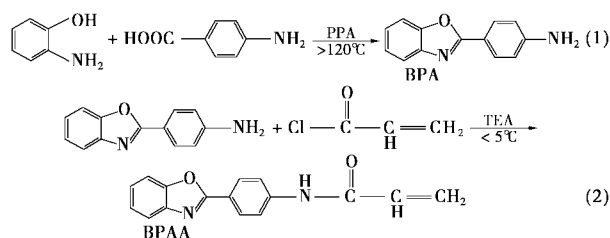
1 实验部分

1.1 主要原料

邻氨基苯酚, AP, 上海第二化工厂; 对氨基苯甲酸, AP, 北京四中化工厂; 多聚磷酸, AP, 天津科威公司; 三乙胺(TEA), AP, 天津市化学试剂一厂; 丙烯酰氯, 自制; 四氢呋喃, AP, 天津市兴化试剂厂, 金属钠, 常压蒸馏提纯。

1.2 BPAA 的合成

BPAA 的合成分为两步进行, 反应式如下:



BPA 的制备:称取等摩尔邻氨基苯酚和对氨基苯甲酸, 与一定量的多聚磷酸混合, 搅拌下投入反应器中。油浴控制温度在 110℃, 通氮气 1 h。升温到 160℃, 反应 3 h, 冷却, 将反应液倒入 500 mL 冷水中, 搅拌, 过滤。得到的灰褐色固体用 10% (质量分数) Na₂CO₃ 溶液浸泡 12 h, 过滤, 得到的固体置于真空中干燥, 收率 98%。

BPAA 的制备:将制得的 BPA 溶解在 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中, 加入少量三乙胺, 在搅拌下缓慢滴加丙烯酰氯和 DMF 的混合溶液, 滴加过程中控制温度低于 5℃。滴加完毕再反应 2 h。反应液加入大量水析出沉淀, 过滤, 用蒸馏水冲洗至中性, 干燥, 在 DMF 中重结晶, 产率为 71.8%。

1.3 产物分析

红外光谱采用 FT-IR Nicolet-50X 红外分光光度计测定, KBr 制样; 核磁共振氢谱(¹H-NMR)采用

Mercury-300BB(300Hz)型测定,内标为四甲基硅烷,溶剂为氘代氯仿;紫外-可见分光光谱(UV)采用 Hitachi 330 UV-VIS 光度计测定,20℃时于乙醇中测得;荧光光谱采用 Hitachi F-3010 型荧光光谱仪,扫描速度为 60 nm/min,响应时间为 6 s,激发狭缝宽度为 5 nm,发射狭缝宽度为 5 nm。

双键含量测定:荧光单体双键含量的测定采用溴化法;熔点测试采用毛细管测熔点法测定。

2 结果与讨论

2.1 BPAA 的结构分析

2.1.1 产物提纯

合成产物在 DMF 中经重结晶提纯。为检验提纯效果,采用薄层色谱分析已提纯产物,不同组成展开剂下的 R_f 值(迁移率)见表 1。由表 1 可知乙酸乙酯与石油醚体积比为 1:1 时,原料、中间产物及最终产物的 R_f 值差距较大,适合于检验产物的提纯效果。

表 1 薄层色谱分析结果

| | 乙酸乙酯与石油醚体积比 | | |
|--------------------------------------|-------------|-------|-------|
| | 1:1 | 2:1 | 3:1 |
| 对氨基苯酚 R_f 值 | 0.444 | 0.466 | 0.794 |
| 邻氨基苯甲酸 R_f 值 | 0.682 | 0.726 | 0.857 |
| 对氨基苯并咪唑 R_f 值 | 0.727 | 0.767 | 0.921 |
| <i>N</i> -4-(2-苯并咪唑基)-苯基丙烯酰胺 R_f 值 | 0.242 | 0.589 | 0.730 |

薄层色谱分析结果显示溶质斑点为单一点,反映出产物分离提纯效果较好。溴化法测得单体产物

(上接第 33 页)

构数据得二维空间结构,晶体尺寸 0.350 mm × 0.272 mm × 0.117 mm,单晶胞 $a = 88.577(15)$ nm、 $\alpha = 90^\circ$; $b = 155.81(3)$ nm、 $\beta = 92.458(4)^\circ$; $c = 129.99(2)$ nm, $\gamma = 90^\circ$,结构见图 2。

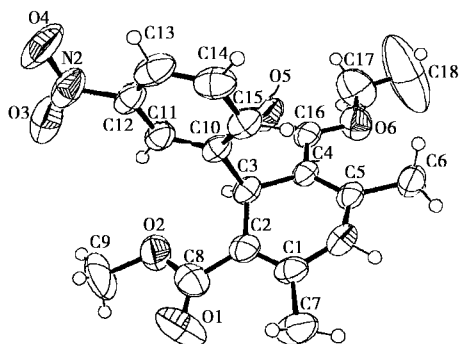


图 2 尼群地平 X 衍射晶体结构图

的双键含量为 98.8%,熔点在 156 ~ 160℃,表明实验中所用的提纯方法合适。表 2 给出了 BPA 和 BPAA 的基本物性。

表 2 BPA 和 BPAA 的物理性质

| 化合物 | 状态 | 溶解性 | 熔点/℃ |
|------|------|--|-----------|
| BPA | 棕色固体 | 不溶于四氯化碳、三氯甲烷、正己烷、氯苯,在大量丙酮中溶解,四氢呋喃中为絮状沉淀,溶于 1,4-二氧六环、乙酸乙酯 | 168 ~ 172 |
| BPAA | 灰色固体 | 溶于丙烯酸、 <i>N,N</i> -二甲基甲酰胺、乙酸乙酯,在大量乙醇中溶解 | 156 ~ 160 |

2.1.2 BPAA 的结构分析

BPAA 的红外吸收谱图见图 1。图 1 中,3 467.5、3 306.4 cm^{-1} 分别为 $-\text{NH}_2$ 缔合、游离伸缩振动;3 054.6 cm^{-1} 为苯环中 $-\text{C}-\text{H}$ 伸缩振动;1 670 cm^{-1} 为羰基双键 $-\text{C}=\text{C}$ 的伸缩振动;1 601.6 cm^{-1} 为咪唑五元环 $\text{C}=\text{N}$ 伸缩振动;1 172.2 cm^{-1} 为咪唑五元环 $-\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动;893.4 cm^{-1} 为 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 面外变形振动。

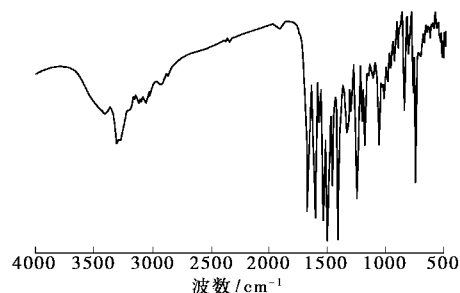


图 1 BPAA 的红外谱图

X 射线衍射分析表明设计合成的手性尼群地平为 *R* 构型,是该旋光物质的单一异构物,与文献[7]报道的结构一致。

参考文献

- [1] Gasparini F, Misiti D, Villani C. [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 906(1-2): 35-50.
- [2] Shi Min, Jiang Jiankang, Feng Yanshu. [J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2000, (11): 4923.
- [3] 丁奎岭,林国强. [J]. 有机化学, 2000, 20(1): 1-11.
- [4] Boatto G, Nieddu M, Faedda M V. [J]. Chirality, 2003, 15(6): 494-497.
- [5] Kaoru Nakamura, Tomoko Matsuda, Tadao Harada. [J]. Chirality, 2002, 14(9): 703-708.
- [6] Achiwa K, Kato T. [J]. Curr Org Chem, 1999, 3(1): 77-106.
- [7] Burger A, Rollinger J M, Brüggeller P. [J]. J Pharm Sci, 1997, 86(6): 674-679. ■

¹H-NMR谱图见图 2, BPA 和 BPAA 的紫外吸收曲线见图 3。

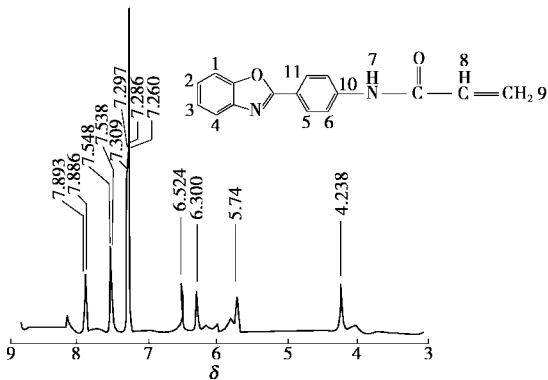


图 2 BPAA 的¹H-NMR谱图

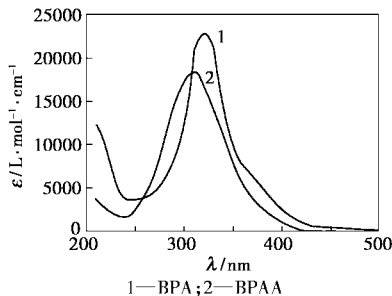


图 3 BPAA 和 BPA 在乙醇溶液中的紫外吸收曲线

图 2 中各核磁吸收谱线的归属为:7.89(6,10), 7.53(5,11), 7.267(1,2,3,4), 6.52(8), 6.30(9), 5.74(9)。

图 3 中, BPA 在 $\lambda = 320 \text{ nm}$ 处有一强的单吸收峰, 计算求得其摩尔吸收系数 ϵ 为 $2.22 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 与文献中苯并呋唑基团的吸收系数相一致^[5]。BPAA 在 $\lambda = 310 \text{ nm}$ 处有一强的单吸收峰, 计算求得此波长下的 ϵ 为 $1.76 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。与未双键化的 BPA 相比, 最大吸收峰红移了 10 nm , ϵ 有所降低, 紫外吸收与分子结构中的电子密度直接相关, 一般接上受电子的基团会引起 ϵ 的降低, 如双键等不饱和键, 这旁证了 BPAA 的分子结构。

由核磁谱图、红外谱图、紫外吸收及双键含量可以确定, 实验合成的荧光单体 BPAA 结构与方程式中表示的结构相吻合。

2.2 荧光性能

由图 4 可以看到, BPAA 在环己烷中的荧光激发谱图和荧光发射谱图间存在良好的镜面对映关系, 这表明分子从基态跃迁至激发态(S_0, S_1), 其构型变化不大, 且振动能级的间隔相同。

从图 5 和图 6 可以看到, 随着溶剂极性的增大(从环己烷到乙腈), BPA 和 BPAA 的吸收峰值波长基本保持不变, 说明在基态时不同极性的溶剂与化合物 BPA 和 BPAA 的作用差别不大。比较特殊的是在非极性溶剂环己烷中, BPA 和 BPAA 在 270 nm 附

近有一小吸收峰, 激发谱图表现出精细结构; 而在极性溶剂, 激发谱图细微结构发生钝化, 这是由极性溶剂与化合物分子间相互作用所致。

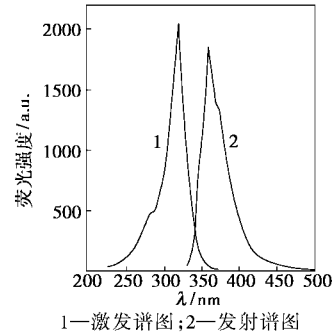


图 4 BPAA 在环己烷中的激发和发射谱图

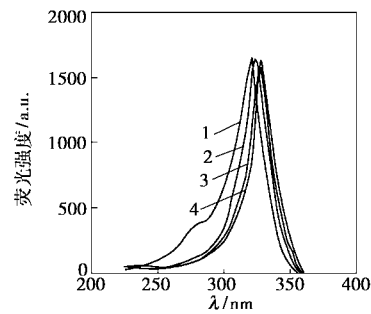


图 5 BPA 在不同溶剂中的荧光激发光谱图

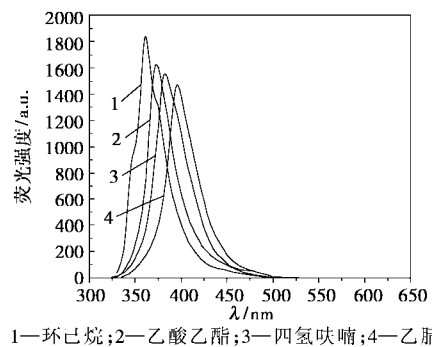


图 6 BPAA 在不同溶剂中的荧光激发光谱图

从图 7 和图 8 可以看出, BPA 和 BPAA 荧光发射光谱中的峰值波长随溶剂极性的增大均发生了不同程度的红移。这是因为在激发态时分子的极性大于基态分子极性, 受溶剂极性的影响要大得多。随着溶剂极性增加, BPA 和 BPAA 荧光发射光谱中的荧光强度略有降低, 但仍具有较高的荧光强度。这与常见的分子内共轭的电荷转移化合物荧光光谱的峰值波长和荧光强度与溶剂极性的关系相一致。虽然分子中存在着 n 电子, 但从其高的摩尔消光系数和高的荧光强度可以认为, 激发分子的衰变主要是从分子的 $\pi - \pi^*$ 跃迁而形成的激发单重态发生而不是从易发生系间窜越的 $n - \pi^*$ 跃迁进而形成的三重态发生。

(下转第 38 页)

2 结果与讨论

2.1 酶的选择

选择了几种来源不同和固定化方法不同的脂肪酶作为催化剂,维生素 A 醋酸酯与棕榈酸的摩尔比为 3:1,温度为 25℃,10 mL 正己烷中,反应 24 h,结果见表 1。由表 1 可看出,Novozym 435 作为催化剂酯化率达到最高,为 75.8%,硅藻土固定化假丝酵母的酯化率为 51.6%,游离假丝酵母作为催化剂的酯化率为 46.0%,但根霉和猪胰脂肪酶却表现出很低的活性,催化合成的维生素 A 棕榈酸酯低至检测不出,故选择 Novozym 435 作为体系反应的催化剂。

表 1 酶的种类对酯化反应的影响

| 酶 | 转化率/% |
|---------------------------------|-------|
| Novozym 435 | 75.8 |
| Lipozyme RM IM | 32.3 |
| LA 201056 | 46.8 |
| Lipozyme TL IM | 28.2 |
| Procine Pancreas | 0 |
| 来自 <i>Candida</i> sp.99-125 的酶 | 46.0 |
| 来自 <i>Rhizopus arrhizus</i> 的酶 | 0 |
| 固定化酶来自 <i>Candida</i> sp.99-125 | 51.6 |

2.2 有机溶剂的影响

有机溶剂作为酶反应的介质直接影响酶的催化

活性及稳定性。Laane^[9]用有机溶剂的极性参数 $\lg P$ 来描述有机溶剂对酶反应的影响($\lg P$ 是该有机溶剂在正辛醇/水体系中分配系数的对数)。笔者试验了 5 种常用的有机溶剂,其相对极性和酯化率见表 2。

表 2 溶剂对反应的影响

| 溶剂 | $\lg P$ | 转化率/% |
|------|---------|-------|
| 正己烷 | 3.5 | 75.4 |
| 石油醚 | ≈ 3.5 | 72.8 |
| 环己烷 | 3.0 | 68.2 |
| 苯 | 2.0 | 54.7 |
| 特戊醇 | 1.15 | 9.6 |
| 四氢呋喃 | 0.49 | 0 |
| 乙醇 | -0.24 | 0 |

由表 2 可见,在其他条件相同的前提下,酯化率与溶剂的疏水性大小次序基本上是一致的,正己烷是较理想的反应介质。

2.3 底物摩尔比的影响

脂肪酶催化酯交换反应是可逆反应,如欲彻底反应,必须使反应物过量,或在反应中移走某产物。笔者对几种不同底物摩尔比进行了比较,以确定最佳摩尔比。在实验中固定维生素 A 醋酸酯的浓度为 6 mmol/L,而棕榈酸的浓度从 6~60 mmol/L 间变化,结果见图 1。从图 1 中可以看出随着维生素 A

(上接第 36 页)

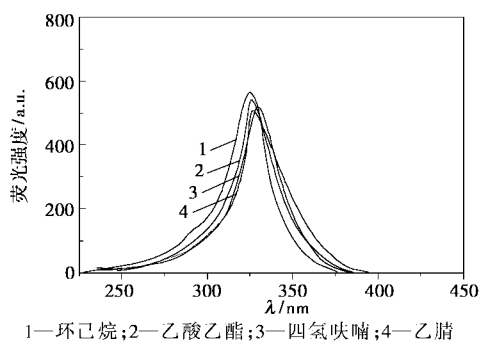


图 7 BPA 在不同溶剂中的荧光发射光谱图

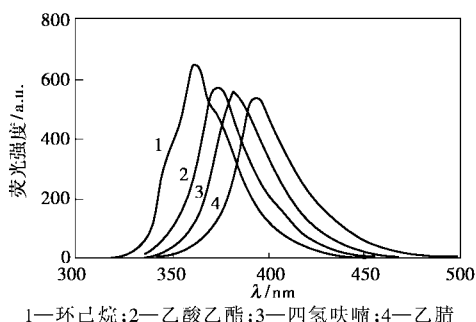


图 8 BPAA 在不同溶剂中的荧光发射光谱图

比较例外的是四氢呋喃中的荧光发射峰出现了与其极性相比出乎寻常的红移,峰值为 394 nm,比乙腈(380 nm)还高,这是因为化合物中的氨基与四氢呋喃形成了氢键。

比较图 6 和图 8 可以看到,同未双键化的化合物 BPA 相比,BPAA 吸收谱图和荧光谱图的峰值和波形基本保持不变,不同的是同样浓度时荧光强度有所降低,但仍具有较高的荧光强度,说明含双键的荧光单体的荧光量子发射产量有所降低,表现出一定的荧光结构自猝灭效应。

参考文献

- [1] Erk C. [J]. Ind Eng Chem Res, 2000, 39(10): 3582 - 3588.
- [2] 李建宇. [J]. 现代化工, 2001, 21(4): 13 - 16.
- [3] 蔡超, 吴大成, 郭睿威. [J]. 工业水处理, 2003, 23(11): 5 - 8.
- [4] 高振衡, 周一民, 王明真, 等. [J]. 高等学校化学学报, 1980, 1(1): 61 - 65.
- [5] 彭兆快, 杨国强. [J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(9): 1424 - 1427. ■