

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

研發以光誘導電荷轉移感應原理之螢光感應分子及其陣列

(1/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2113-M-002-031-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學化學系暨研究所

計畫主持人：陳昭岑

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 5 月 30 日

研發以光誘導電荷轉移感應原理之螢光感應分子及其陣列 (1/3) 進度報告

計畫編號：NSC 91-2113-M-002-031

執行期限：91/08/01 ~92/07/31

主持人：陳昭岑 台大化學系助理教授

05/29/2003

(一) 背景及動機

在生物體中，鈉、鉀、鎂、鈣等離子具有神經脈衝傳送、肌肉收縮及細胞活性調整等功能；而重金屬如汞、鎘、鉛等離子對環境會造成污染進而危害到人體健康。因此，陽離子的偵測一直以來是科學家們研究的目標之一。

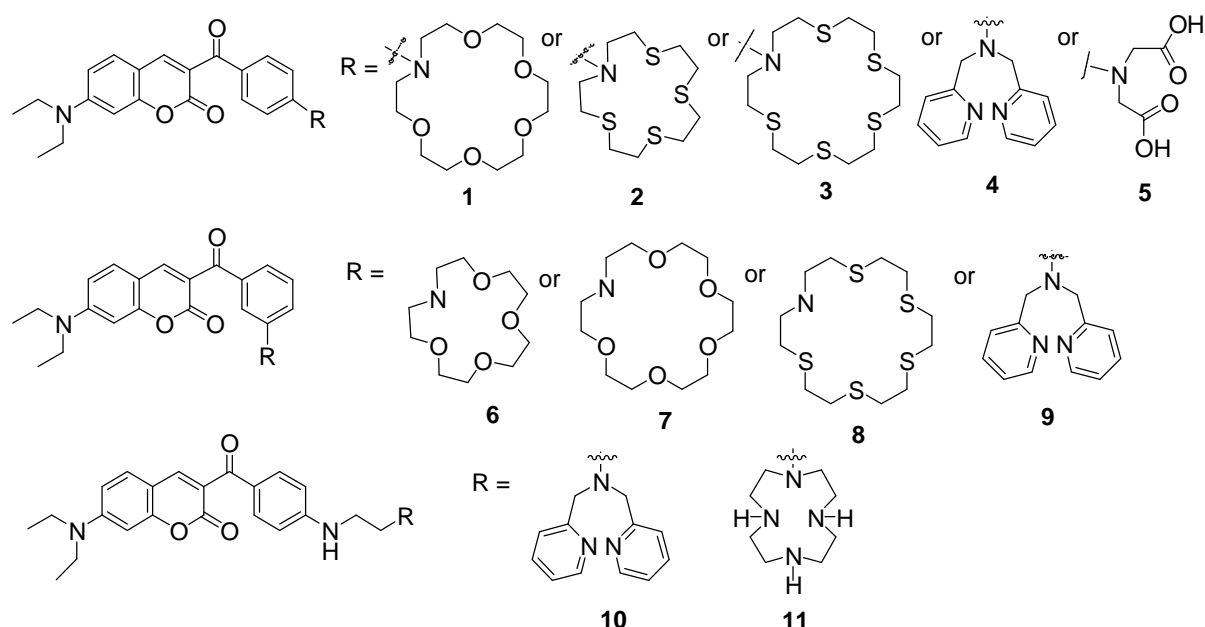
目前偵測陽離子的方法包含火焰光譜法 (flame photometry)、原子吸收光譜法 (atomic absorption spectrometry)、離子選擇性電極 (ion selective electrodes)、電子微探針法 (electron microprobe) 及中子活化分析法 (neutron activation analysis) 等，而上述的方法缺點在於樣品需求量大且無法連續偵測；相反地，利用化學感測器 (chemosensor) 偵測則可避免這些缺點。

所謂化學感測器通常是指以化學方法所製備的，具有高靈敏度且對特種有機，無機或生化醫學物質具有相當高選擇性之偵測器。由於所用的化學感應材料不多，可在一般化學實驗室中合成製備。化學感應材料的不同，偵測的對象也不同。故化學感測器的化學感應材料之合成及設計是化學研究上很有意義的挑戰。

我們所設計開發的化學感測器主要以螢光感測器 (fluorescent sensor) 為研究對象，主要是利用螢光感測的高靈敏度優點，可以有很高的偵測極限，且不會有其它不具螢光物質存在的干擾，所以不必經由複雜的預前處理而拖延偵測的時間。然而用螢光感測分子偵測重金屬離子在螢光強度的改變上有一些難以避免的困難。因為大部分重金屬離子的存在會導致螢光驟熄的問題。在訊號的偵測及金屬離子選擇性的判別上容易造成困難。再者，螢光驟熄的機制有多種，所以當有待測物存在時螢光強度最好增強，才容易判斷訊號的改變是因為待測物存在的影響。所以本計畫的目的是設計合成對重金屬離子具有專一性的螢光感應分子，且在待測離子存在時，螢光會有大幅的增加。本實驗室，曾發表對鉛離子具有感應的螢光分子，對於其他重金屬離子的檢測、螢光感應分子的結構分子的設計、螢光物理性質均投入相當多研究精力。目前我們合成了分別對汞、鎘、銅金屬離子的感應分子。

我們所設計的金屬離子感測器是以香豆素為訊號傳遞單元，主要原因為香豆素是穩

定的雷射染料 (laser dye)，其吸收在可見光範圍內，且在溶液中是屬於環境敏感性高的發色團，可達到螢光強度的變化。至於辨識單元部分，則由不同的冠醚分子、含氮雜環的多胺類和環狀脂肪胺類和香豆素上內酯 (lactone) 及苯甲醯基上的羰基 (carbonyl) 組成 (圖一)，期望對特定金屬離子產生較強的結合力以達到辨識的目的。這些化合物經過多步反應合成純化後，再和不同金屬離子進行測試。合成和結果分別討論於後。



圖一：所設計合成的螢光感應分子

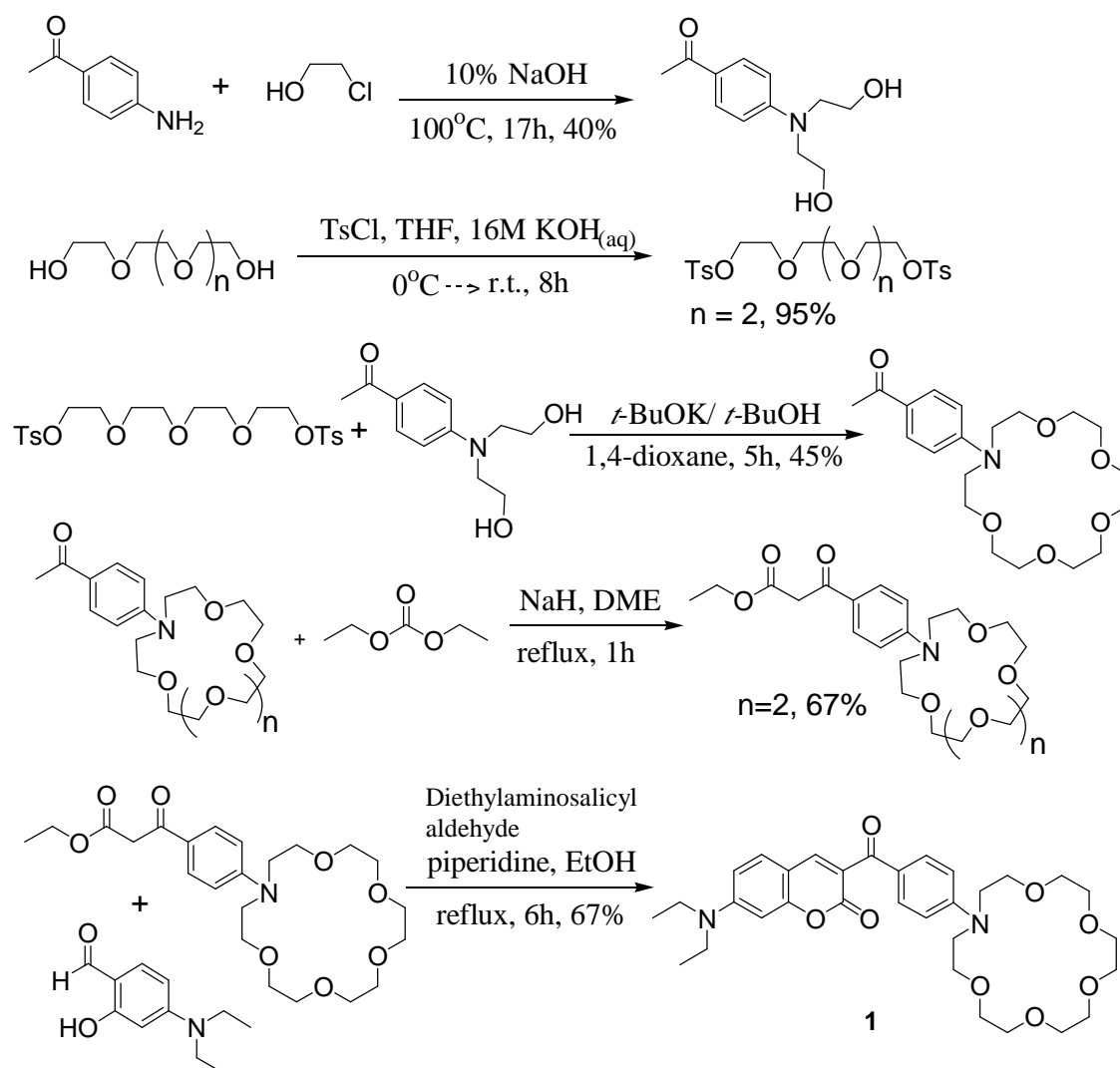
(二) 合成策略

金屬離子感測分子 **1**、**2**、**3**、**6**、**7**、**8** 相當類似。合成從先進行環化反應，在苯甲醯基上建構大小及種類不同的冠醚分子，然後再與碳酸二乙酯 (diethyl carbonate) 進行反應得到具有酯類 (ester) 的化合物，最後在進行 Knoevenagel condensation 反應而得到金屬離子感測分子。流程一是合成感測分子 **1** 的合成步驟。先以對胺基乙醯苯為起始物，此起始物上的氮原子孤對電子會與苯甲醯基產生共振因而降低親核性取代反應的速率；所以 2-氯乙醇 (2-chloroethanol) 需以大量的當量數和對胺基乙醯苯反應，才能得到產率較高的雙取代羥基 (hydroxyl group) 希望產物 **1a**。而實驗結果發現，提高 2-氯乙醇的當量數確實能提高產率，但仍有單取代羥基的化合物存在。接著，製備碳鍊長度不同，具有雙取代的對甲苯磺基 (-OTs) 化合物。以四氫呋喃 (THF) 為溶劑，將對苯磺醯氯 (-TsCl) 與四甘醇 (tetraethylene glycol) 反應，再以 16M 的氫氧化鉀水溶液中中和所產生的對甲苯磺酸 (*p*-TSA)，即可得到產物 **1b**。在合成辨識單元的冠醚部分，將化合物 **1b** 與化合物 **1a** 在第三丁基醇 (*t*-BuOH) 溶劑下，分別以第三丁基醇鈉 (*t*-BuONa) 及第三丁基醇鉀 (*t*-BuOK) 當鹼，進行環化反應而得到化合物 **1c**。進行環化反應後，在除過

水的二甲氧基乙烷溶劑及氫化鈉 (NaH) 為鹼的條件下與碳酸二乙酯反應，即可得到具有酯類官能基的化合物 **1d**。將 4-二乙基胺-羥基苯甲醛分別與化合物 **1d** 反應即可得到感測分子 **1**。感測分子 **6**、**7** 的合成和 **1** 類似不再贅述。

感測分子 **2**、**3**、**8** 的合成步驟與之前的方法有些許差異。首先，將 3,6-Dithia-1,8-octanediol 與 thiourea 在濃鹽酸的條件下，加熱迴流；接著，再加入 3M 氫氧化鈉水溶液，繼續加熱迴流而得到化合物 **2a**。另一個差異在於離去基由對甲苯磺基置換成碘基；其目的在於碘基化合物與 **2a** 反應成冠醚分子的產率較高。剩下的反應合成步驟及方法則和前述製備感測分子 **1** 類似。

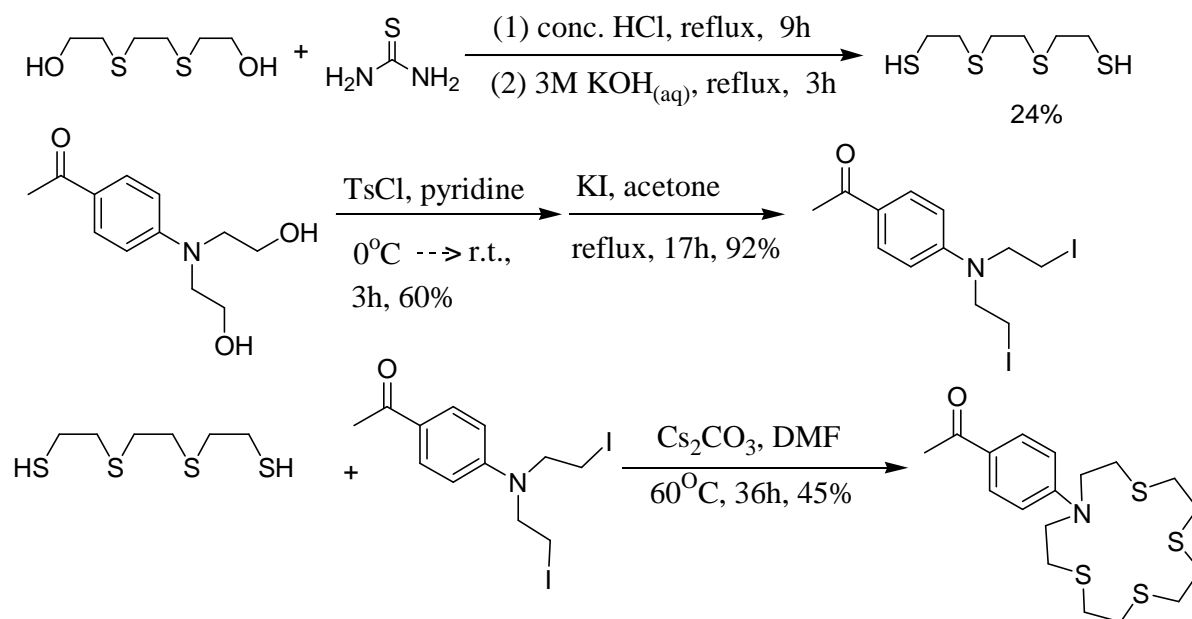
流程一：合成感測分子 **1** 的反應步驟



合成 **7**、**9** 的感測分子則如流程三所示。先以對，間位胺基乙醯苯為起始物，在以氰甲烷為溶劑下，與 2-溴甲基吡啶 (2-bromomethylpyridine) 進行反應和分別可得化合物

7a、9a。由實驗結果發現，以對氨基乙醯苯為起始物的反應性很差，即使換極性較高的溶劑，或換不同的鹼和催化劑，產率都不高。可能是先反應成單取代化合物後，其溶解度變很差，並且因為共振效應，使胺基的親核性變差，造成雙取代的反應性差。含氮雜環的多胺類化合物，在除過水的二甲基氧基乙烷溶劑及氫化鈉 (NaH) 為鹼的條件下與碳酸二乙酯反應，分別可得到合成步驟中最重要的酯類官能基的化合物 **7b、9b**。之後的環合反應則和之前討論的環合反應類似。即可分別得到感測分子 **7、9**。溶劑的選擇方面，以比例為 1:1 的氰甲烷 (MeCN) 與乙醇為共溶劑 (cosolvent) 系統，有較少的副產物生成，反應時間較長，但較易於純化。而由實驗結果得知，因為化合物 **7** 與其起始物極性相當接近，故純化上須以兩種不同沖提液系統，流矽膠管柱層析分離純化兩次，最後再以乙酸乙酯再結晶才能的得到純的化合物，所以產率較低。

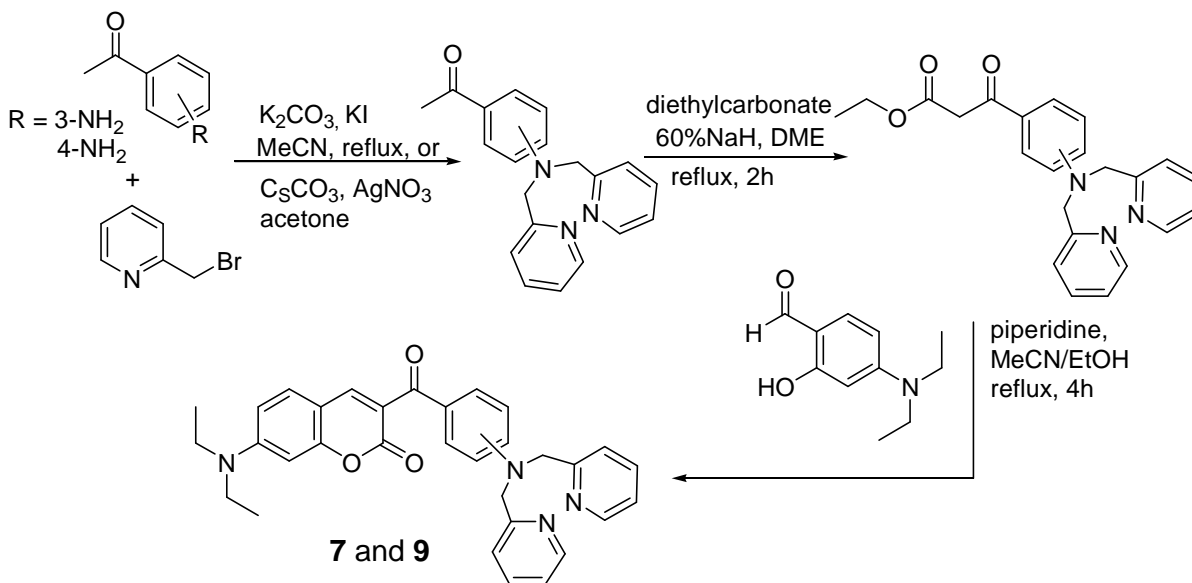
流程二：合成感測分子 **2、3、8** 的一些反應步驟



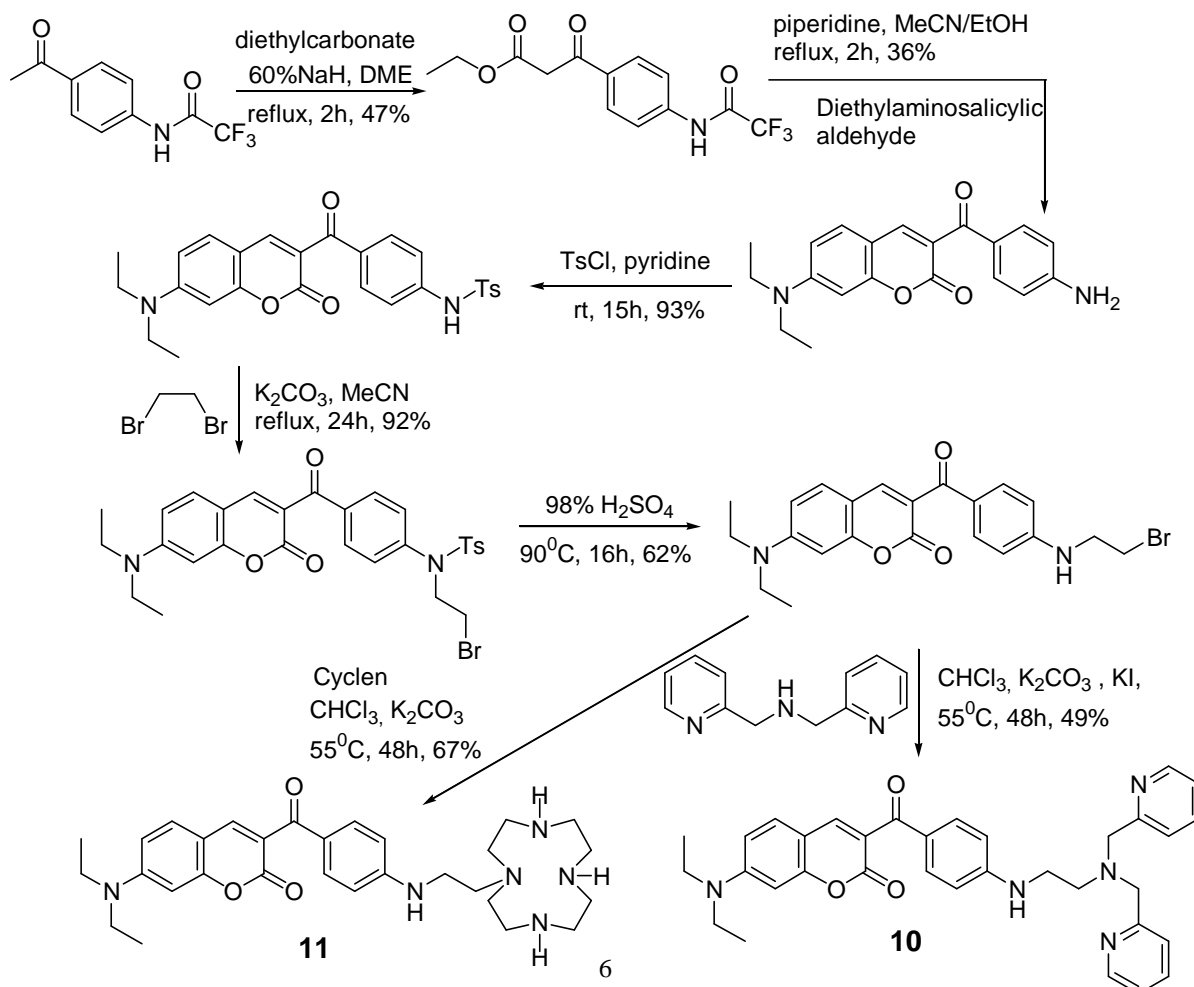
最後討論感測分子 **5、10、11** 合成，如流程四所示。先以對氨基乙醯苯為起始物，在以氰甲烷為溶劑下，與三氟醋酸酐進行反應和可得化合物 **5a**。接著將化合物 **5a**，在除過水的二甲基氧基乙烷 (DME) 溶劑及氫化鈉 (NaH) 為鹼的條件下與碳酸二乙酯反應，即可得到具有酯類官能基的化合物 **5b**。然後將 4-二乙基胺-羥基苯甲醛與化合物 **5b** 反應即可得到 **5c**。**5c** 與對苯磺醯氯 (-TsCl) 以當鹼，二氯甲烷當溶劑的條件下反應，即可得到保護胺基的化合物 **5d**。**5d** 再與 1,2-二溴乙烷 (1,2-dibromoethane) 在以碳酸鉀為鹼氰甲烷當溶劑的條件下反應，即可得到在胺基上含有溴連接端的化合物 **5e**。然後將化合物 **5e** 溶於濃硫酸中，並加熱至 90°C 十六小時，進行胺基上的保護基的去保護，得到此一系列合成最重要的中間產物 **5f**。此化合物可以接上具辨識能力的多氮化合物則可

分別得到感測分子 **5**、**10**、**11**。

流程三：合成感測分子 **7**、**9** 的反應步驟



流程四：合成感測分子 **10**、**11** 的反應步驟



(三) 感測分子 **1, 6, 7** 對金屬離子選擇性及光譜性質

我們的研究目的主要在探討所設計的感測器對於那些金屬離子會產生作用，而一旦作用後，是否會導致光物理性質或其他訊號的改變。表一對所設計的感測分子 **1, 6, 7** 與金屬離子作用後，在吸收光譜、放射光譜、及核磁共振光譜的變化加以整理。實驗條件為在 25°C 下，以氟甲烷為溶劑，將各化合物配置濃度為 10^{-5} M 溶液，之後再分別與濃度為 10^{-2} M 的過氯酸鹽金屬離子溶液滴定。其中 SE 表示各金屬離子所到達的飽合當量數， I/I_0 表示由化合物結合飽合當量數的金屬離子與未加任何金屬離子所造成的螢光強度比，N/A 表示金屬離子與化合物作用後，所造成的變化很小，R 表示離子半徑。

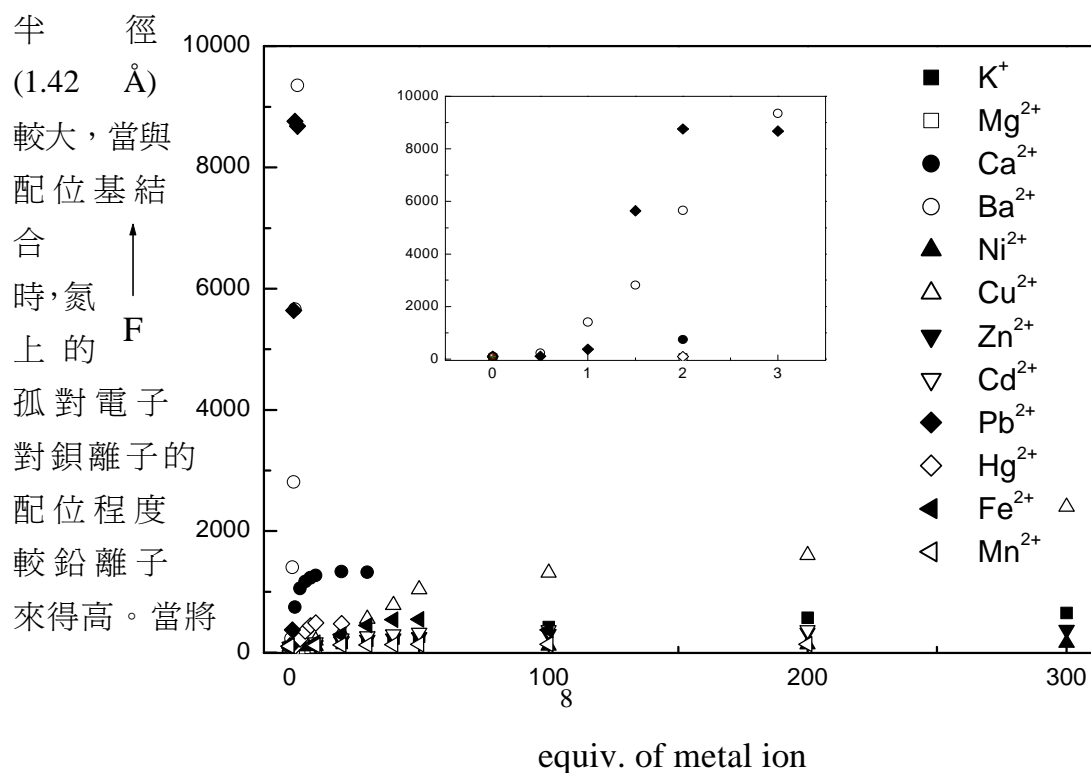
表一：不同大小冠醚分子及變化其在苯甲醯基的位置 (**1, 6, 7**) 對於金屬離子選擇性、所需飽和當量數、吸收光譜及、螢光光譜最大波長的變化

Metal ion	Monoaza-15-crown-4				6			
	SE	$\Delta\lambda_{abs}$	$\Delta\lambda_{em}$	I/I_0	SE	$\Delta\lambda_{abs}$	$\Delta\lambda_{em}$	I/I_0
Li ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	200	3	10	13.0
Na ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	300	3	9	21.0
K ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	300	2	7	3.5
Mg ²⁺	20	67	N/A	0.7	10	1	11	1.6
Ca ²⁺	40	47	17	7.6	10	11	11	26.0
Ba ²⁺	100	20	16	12.0	20	18	13	24.0
Ni ²⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	5	0	3	1.5
Cu ²⁺	100	15	9	18.0	2	1	3	1.0
Zn ²⁺	30	70	9	0.8	20	18	15	4.5
Cd ²⁺	200	4	15	4.9	5	9	14	18.0
Hg ²⁺	6	21	20	2.8	3	18	16	8.8
Fe ²⁺	50	74	4	0.6	20	7	13	3.8
Mn ²⁺	100	70	7	0.7	50	9	13	14.0
Pb ²⁺	10	15	21	40.0	3	11	13	11.0
Ag ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	30	0	3	1.5

Metal ion	1				7			
	SE	$\Delta\lambda_{abs}$	$\Delta\lambda_{em}$	I/I_0	SE	$\Delta\lambda_{abs}$	$\Delta\lambda_{em}$	I/I_0
Li ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	15	1	2.8	1.9
Na ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	50	1	4.6	4.9

K ⁺	200	N/A	16	6.3	70	7	4.8	21.0
Mg ²⁺	10	67	15	1.2	5	1	2.2	2.0
Ca ²⁺	8	12	19	18.0	4	7	9.8	15.0
Ba ²⁺	4	13	18	99.0	6	12	9	33.0
Ni ²⁺	200	74	17	1.4	10	2	3.4	2.0
Cu ²⁺	50	24	8	14.0	7	21	9.8	3.1
Zn ²⁺	100	71	20	3.3	9	10	13.6	3.1
Cd ²⁺	50	4	15	3.5	80	8	8.4	4.2
Hg ²⁺	10	18	23	6.3	7	16	10.8	6.3
Fe ²⁺	50	24	23	5.3	20	16	10.6	5.8
Mn ²⁺	40	69	3	1.2	7	2	3.8	1.9
Pb ²⁺	2	15	19	83.0	4	12	8.8	36.0
Ag ⁺	N/A	N/A	N/A	1.0	20	1	4.4	2.1

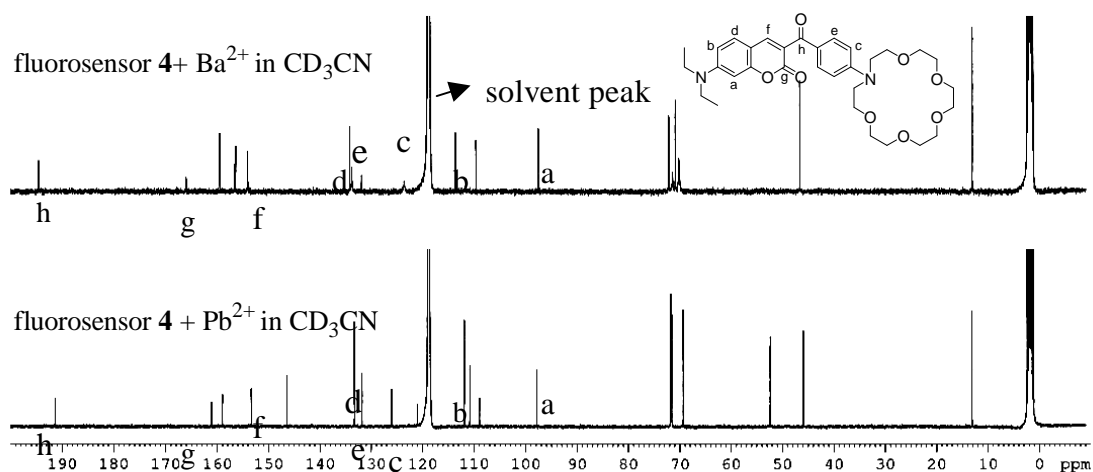
感測分子 **1** 在各種金屬離子的滴定下，所呈現出的結果大部分與具有 **Monoaza-15-crown-4** 辨識集團的感測分子類似，除了少數例外。將各金屬離子的當量數與所對應的螢光強度作圖，可得到圖二。由此圖可明確比較出在眾多金屬離子中，感測分子 **1** 對鉛離子及鋇離子具有最大的結合強度。感測分子 **1** 溶液中只要含有 20 μM (2 當量) 鉛離子時，螢光強度即有 83 倍的增加。因此感測分子 **1** 對鉛離子所呈現的結合強度及螢光強度變化均比具有 **Monoaza-15-crown-4** 辨識集團的感測分子大。除此之外，當感測分子 **1** 溶液中含有濃度為 40 μM (4 當量) 的鋇離子時，其螢光強度變化為 99 倍，大於鉛離子所造成的變化。鋇離子之所以造成較大的螢光強度變化，可能由於鋇離子的



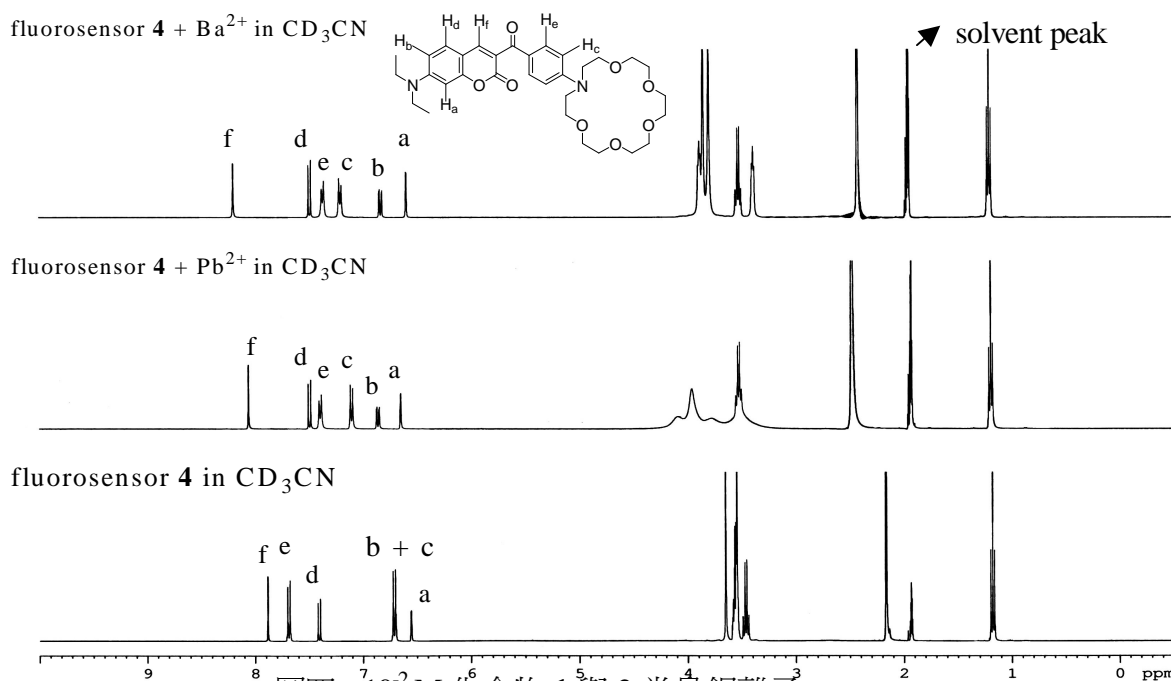
冠醚分子和苯甲醯基上的羰基 (carbonyl) 的相對位置改變，則所合成的感測分子 **6**, **7** 與金屬離子的選擇性及螢光變化則有和具有 **Monoaza-15-crown-4** 感測分子及感測分子 **1** 不同 (表一)。所以在設計感測分子時在結構上考量上應特別仔細。

圖二：感測分子 **1** 與各金屬離子結合的螢光 isotherm 圖表；F 表示螢光強度

爲了證實鉛離子或鋇離子與化合物 **1** 中的羰基是否有形成配位，我們利用核磁共振光譜及紅外線吸收光譜加以證明。圖三、四是濃度爲 10^{-2} M 化合物 **1** 分別在 2 當量的鉛離子及 4 當量的鋇離子在下所偵測出的碳譜。由圖可知，加入鉛離子，均會使兩個羰基的化學位移往低磁場方向偏移，因此鉛離子會與化合物 **1** 中的兩個羰基形成配位。加入鋇離子時，只有其中一個羰基的化學位移變化較明顯。



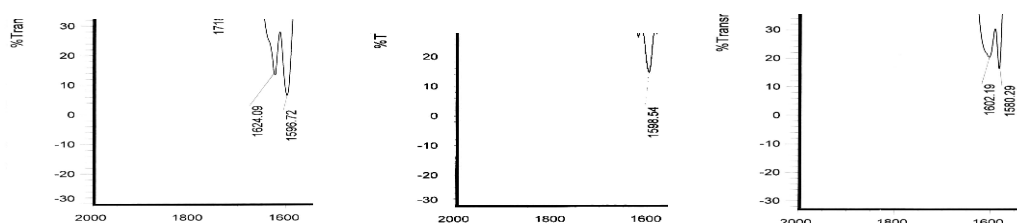
圖三： 10^{-2} M 化合物 1 與 2 當量鉛離子

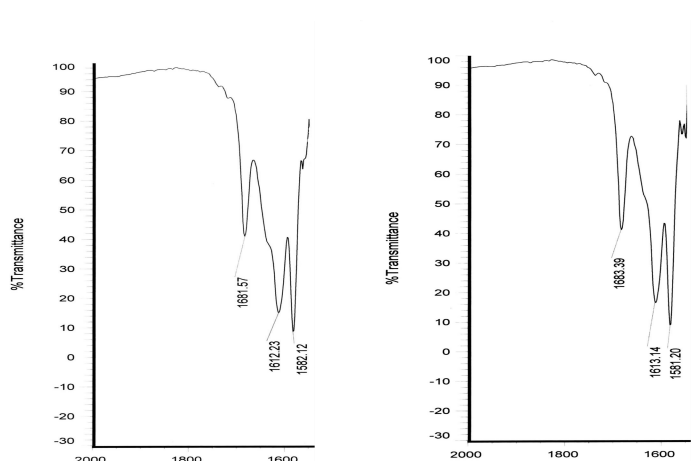


圖四： 10^{-2} M 化合物 1 與 2 當量鋇離子

除了碳譜的變化可得知鉛離子與鋇離子的配位與羰基有關聯外，由氫譜也可觀察出其相關性 (如圖四)。當鉛離子或鋇離子加入化合物 1 時，位於香豆素上的氫原子 f、d 的化學位移均往低磁場方向偏移，證明金屬離子與羰基配位後會造成碳上電子缺乏，因而導致氫原子 f、d 的化學位移偏大。其中，氫原子 f 較靠近配位中心，因此所造成的化學位移差比氫原子 d 大。

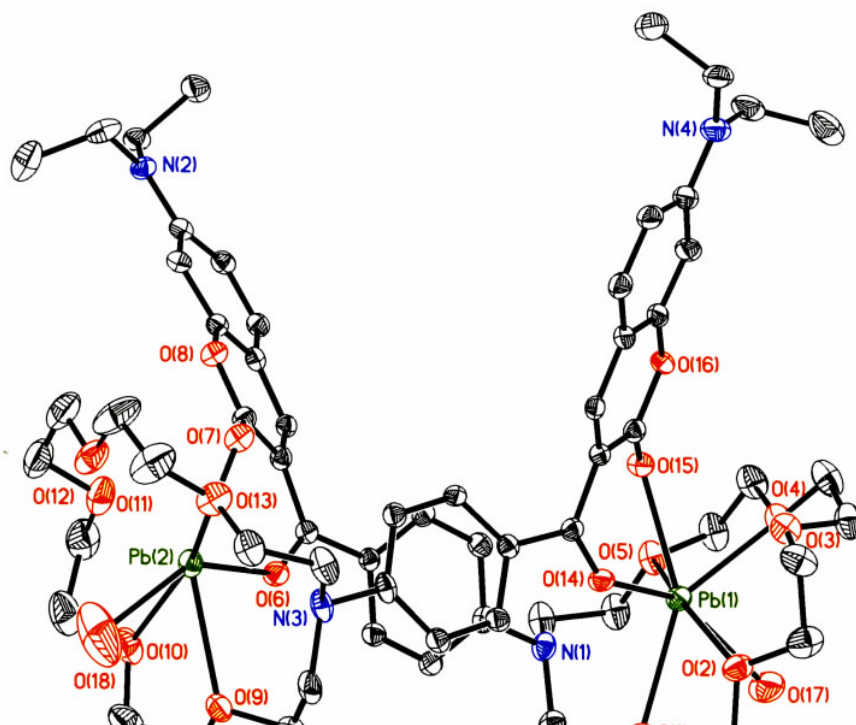
由紅外線吸收光譜也可確認羰基有參與配位。我們所偵測的條件是以濃度為 10^{-2} M 溶液為對象，如圖五，在近似 1700 cm^{-1} 的羰基吸收會隨著鉛離子及鋇離子的加入有所變化。





圖五：不同當量數的鉛離子與化合物 **1** 結合的紅外線吸收部分變化

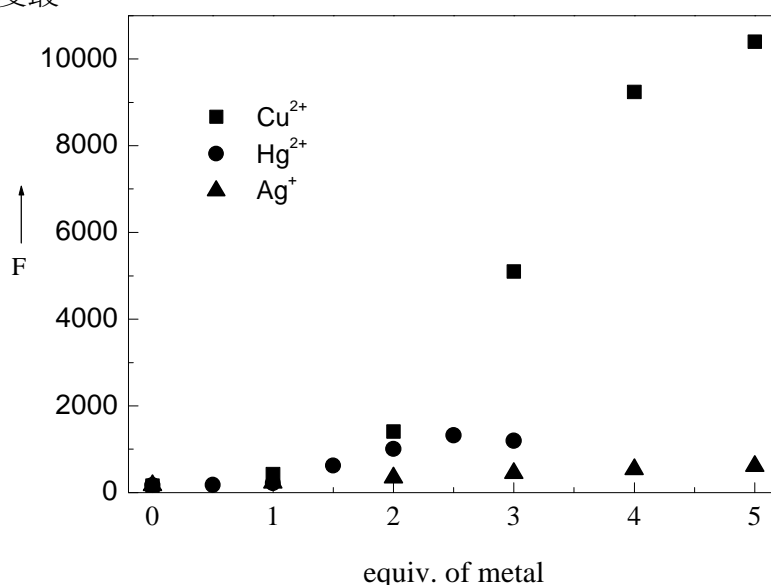
而化合物 **1** 與鉛離子的配位情形及比例，可由單晶結構繞射圖形得知（圖六）。在乙酸乙酯及氰甲烷的溶液下，鉛離子與一分子的兩個羰基及另一分子的冠醚配位而形成 2 : 2 的比例。至於鋇離子，則因無法獲得其單晶結構，所以無法確定與化合物 **1** 配位比例及情形。



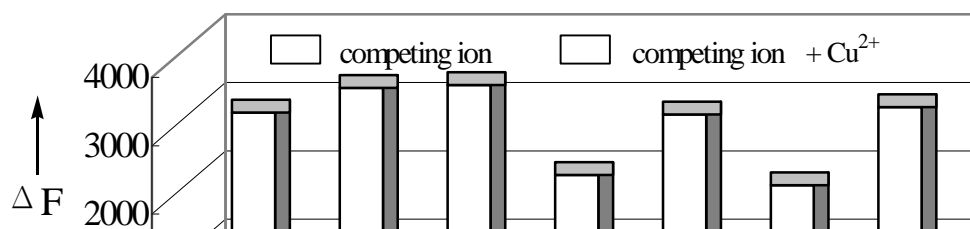
圖五：化合物 1 與鉛離子配位的 ORTEP 結構圖

(四) 感測分子 2、3、8 對金屬離子選擇性

金屬離子感測分子 2 在 15 種金屬離子中，只有銀、汞、銅離子與感測分子 2 形成複合物時，螢光強度會增強；其中，以銅離子所造成的變化最明顯 (圖六) 及結合強度最



圖六：感測分子 2 與銅、汞、銀離子結合的螢光變化，F 為螢光強度。因此感測分子 2 對銅離子而言是高選擇性的螢光感測分子。由感測分子 2 與銅離子的吸收波長及螢光強度的變化推測，銅離子與感測分子 2 是以合作的關係配位。此外，我們也作了競爭實驗的研究，以證明銅離子與感測分子 2 的結合能力很強，不會受到其它金屬離子的干擾。如預期所推測，在各干擾離子的存在下，銅離子仍具有相當高的結合強度 (圖七)，但是汞離子的存在會影響到銅離子與感測分子 2 的結合，其螢光強度先隨著 1 當量銅離子的加入而增強，之後則降低。而表二為銅離子加入前後所增加的螢光強度倍數。感測分子 3、8 的特性和感測分子 2 類似。



圖七：含有干擾金屬離子存在時感測分子 **2** 與銅離子結合的螢光強度變化圖；激發波長為 411 nm。

至於感測分子 **4**、**5**、**9**、**10**、**11** 對金屬離子的選擇性目前正在進行。同時我們亦嘗試將這些感測分子和奈米粒結合，希望能發展在水中偵測微量金屬離子的最終目標。