

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ  
АРИЛФОСФОНОВЫХ КИСЛОТ**

Николаев Андриян

Ученик 10 класса

МБОУ «Лицей №2» города Чебоксары

Научные руководители:

Михайлова Тамара Васильевна  
учитель химии высшей категории

МБОУ «лицей №2» г.Чебоксары

Митрасов Юрий Никитич

заведующий кафедрой химии и биосинтеза

ФГБОУ ВПО «ЧГПУ им. И.Я. Яковлева» г.Чебоксары

## Оглавление

Аннотация.....	3
Введение.....	4
Основная идея работы, цели, задачи .....	5
Литературный обзор.....	6
Основные результаты .....	7
Выводы, заключение, перспективы .....	13
Список цитированных источников .....	14

## Аннотация

Наши исследования проводились на оборудовании лаборатории кафедры химии и биосинтеза ФГБОУ ВПО «ЧГПУ им. И.Я. Яковлева». Были использованы методы фосфорорганического синтеза, элементного и функционального анализов, ИК и ЯМР спектроскопия.

Результаты исследования могут быть использованы в технике для разработки светотехнических объектов, например, светознаки, системы аварийной, предупреждающей, рекламной и другой информации на дорогах, аэропортах, местах общественного пользования и т. д., не потребляющих электроэнергию; при изготовлении нанокompозитов. Кроме того, они могут быть использованы в качестве флуорохромных меток в медикобиологических цитологических исследованиях, в том числе селективных к каким-либо биологическим мишеням. В наномасштабе протекают все базовые физические процессы, определяющие макровзаимодействия.

*Целью работы* явилось изучение флуоресцирующей и биологической активности арилфосфоновых кислот.

*Задачи проекта:*

- Синтезировать аддукт пентахлорида фосфора со стиролом.
- Изучить реакции аддукта пентахлорида фосфора и стирола с L-лизинном и L-аргинингидрохлоридом.
- Синтезировать 3-амино-, 4-хлорфенил- и стирилфосфоновые кислоты, а также 4-фосфонобензол-1,3-дикарбоновую кислоту и изучить их флуоресцирующую активность.
- Изучить биологическую активность стирилфосфоновой кислоты.

*Новизна* моего проекта заключается в том, что я впервые использовал основные аминокислоты в качестве трансформеров аддукта пентахлорида фосфора со стиролом при получении стирилдихлорфосфоната, тогда как ранее использовались малодоступные и высокотоксичные вещества, которые не вполне отвечают требованиям современного химического производства, было сокращено число технологических операций данного продукта.

*Выводы:*

- 1) Предложено использовать основные аминокислоты в качестве эффективных, технологичных и экологически безопасных трансформеров 1-алкенилтрихлорфосфоний гексахлорфосфатов до 1-алкенилдихлорфосфонатов.
- 2) Выявлено, что стирилфосфоновая кислота с учетом разработанных нами трансформеров становится легко доступным и высокоэффективным веществом, обладающим биологической активностью и флуоресцентными свойствами.
- 3) Впервые выявлена флуоресцирующая активность арилфосфоновых кислот

Объем работы-14 стр, количество таблиц-4, количество использованных литературный источников-4.

### **Введение:**

#### **Актуальность выбранной темы:**

Одной из фундаментальных физических характеристик веществ является способность к флуоресценции. Интерес к таким органическим соединениям обусловлен возможностью использования их в технике как световых маркеров, не потребляющих электроэнергию. Флуорофоры с высокими квантовыми выходами и хорошей фотостойкостью могут применяться в качестве компонентов активных сред лазеров на красителях. Флуоресцентные пигменты добавляются в краски, фломастеры, а также при окраске текстильных изделий, предметов обихода, украшений и т. п. для получения особо ярких цветов. Флуоресцирующие вещества используются для анализа загрязнения окружающей среды. В биохимии и молекулярной биологии нашли применение флуоресцентные зонды и красители, которые могут быть использованы в качестве флуорохромных меток в медикобиологических цитологических исследованиях, в том числе селективных к каким-либо биологическим мишеням. В наномасштабе протекают все базовые физические процессы, определяющие макровзаимодействия.

Флуоресцентными свойствами обладает чрезвычайно большое количество органических соединений. Однако практическое значение имеют только производные кумарина, флуоресцеина, родамина, борфторидных комплексов дипирролилметена BODIPY, цианиновые и сквариновые красители.

## **Основная идея работы, цели, задачи**

Цель работы:

Изучение флуоресцирующей и биологической активности арилфосфоновых кислот.

Задачи проекта:

- Синтезировать аддукт пентахлорида фосфора со стиролом
- Изучить реакции аддукта пентахлорида фосфора и стирола с L-лизинном и L-аргинингидрохлоридом
- Синтезировать 3-амино-, 4-хлорфенил- и стирилфосфоновые кислоты, а также 4-фосфонобензол-1,3-дикарбоновую кислоту и изучить их флуоресцирующую активность
- Изучить биологическую активность стирилфосфоновой кислоты

Наши исследования проводились на оборудовании лаборатории кафедры биоэкологии и химии ФГБОУ ВПО «ЧГПУ им. И.Я. Яковлева». Были использованы методы фосфорорганического синтеза, элементного и функционального анализов, ИК и ЯМР спектроскопия.

## **Новизна работы**

Новизна моего проекта заключается в том, что я впервые использовал основные аминокислоты в качестве трансформеров аддукта пентахлорида фосфора со стиролом при получении стирилдихлорфосфоната, тогда как ранее использовались малодоступные и высокотоксичные вещества, которые не вполне отвечают требованиям современного химического производства.

Впервые была выявлена флуоресцирующая активность арилфосфоновых кислот.

## Литературный обзор

*Флуоресценция* – физический процесс, разновидность люминесценции. Флуоресценцией обычно называют излучательный переход возбужденного состояния с самого нижнего синглетного колебательного уровня  $S_1$  в основное состояние  $S_0$ . В общем случае флуоресценцией называют разрешенный по спину излучательный переход между двумя состояниями одинаковой мультиплетности: между синглетными уровнями  $S_1 \rightarrow S_0$  или триплетными  $T_1 \rightarrow T_0$ . Типичное время жизни такого возбужденного состояния составляет  $10^{-11}$ – $10^{-6}$  с.

Флуоресценцию следует отличать от фосфоресценции – запрещенного по спину излучательного перехода между двумя состояниями разной мультиплетности. Например, излучательный переход возбужденного триплетного состояния  $T_1$  в основное состояние  $S_0$ . Синглет-триплетные переходы имеют квантово-механический запрет, поэтому время жизни возбужденного состояния при фосфоресценции составляет порядка  $10^{-3}$ – $10^{-2}$  с.

### *Происхождение термина*

Термин «флуоресценция» происходит от названия минерала флюорит, у которого она впервые была обнаружена, и лат. *-escent* – суффикс, означающий слабое действие.

### *История изучения*

Впервые флуоресценцию соединений хинина наблюдал физик Джордж Стокс в 1852 году.

## Основные результаты

Настоящий эксперимент проводился в реакторе на базе кафедры химии ФГБОУ ВПО «ЧГПУ им. И.Я. Яковлева»

Синтез стирилтрихлорфосфоний гексахлорфосфата осуществляли по стандартной методике в среде абсолютного бензола.

Синтезы проводились в реакторе, представляющим собой трехгорлую колбу, снабженную механической мешалкой с затвором, обратным холодильником с хлоркальциевой трубкой, термометром и капельной воронкой.

К суспензии пентахлорида фосфора в абсолютном бензоле при перемешивании прибавляли по каплям стирол. После прибавления всего стирола, реакционную смесь перемешивали и выдерживали в течение суток при комнатной температуре. К образовавшемуся объёмному кристаллическому аддукту порциями прибавили L-лизин и перемешивали. Реакция протекала с достаточно высокой скоростью при комнатной температуре. При этом образовался раствор желто-оранжевого цвета и выпал осадок, который представляют собой гидрохлорид хлорангидрида 2,6-диаминогексановой кислоты. После отделения осадка перегонкой фильтрата был получен дихлорангидрид стирилфосфоновой кислоты.

Аналогично проводили реакции с использованием L-аргинингидрохлорида.

ИК спектры были записаны на спектрометре ФСМ-1201 в диапазоне 400-4000  $\text{см}^{-1}$ . Призма - хлорид калия или бромид калия. Твердые вещества исследовались в виде суспензии в вазелиновом масле.

***Анализ полученных данных, в том числе сравнение с имеющимися данными других исследователей.***

Известно, что при взаимодействии пятихлористого фосфора с алкенами образуются органилтрихлорфосфоний гексахлорфосфаты, которые чрезвычайно легко гидролизуются до соответствующих фосфоновых кислот. Однако для фосфорорганического синтеза наибольшее значение имеют хлорангидриды кислот фосфора (IV). Для их получения соединениями хлорфосфония было предложено обрабатывать различными реагентами [оксид серы (IV), оксид фосфора (V), сероводород, оксид кальция, карбоновые кислоты и их производные, альдегиды и кетоны]. Несмотря на большой ассортимент, используемые агенты не вполне отвечают требованиям современного производства вследствие различных причин:

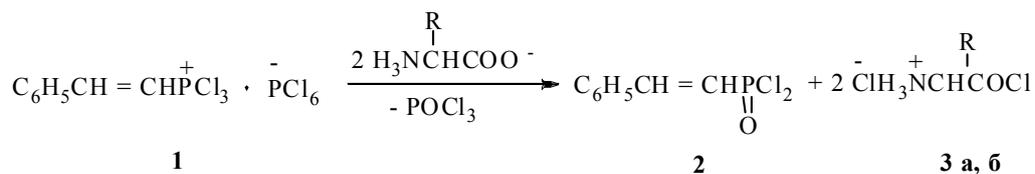
- малой доступности;
- высокой токсичности;
- горючести;
- увеличения числа технологических операций;
- большого количества неиспользуемых отходов;

- длительности процесса;
- в ряде случаев из-за низких выходов.

Поэтому разработка новых более эффективных и технологичных трансформеров нами является актуальной задачей. В качестве таких трансформеров нами предлагаются основные аминокислоты – лизин и аргинингидрохлорид.

Выбор указанных соединений в качестве трансформеров соединений хлорфосфония был обусловлен следующими причинами. Известно, что в процессе комплексообразования нуклеофилов с пентахлоридом фосфора за исключением 1-алкенов, сопровождается выделением хлористого водорода, который способен в дальнейшем присоединиться по двойной связи алкенилдихлорфосфоранов, что приводит к загрязнению целевых продуктов. На наш взгляд, наличие в предложенных трансформерах основных аминогрупп, являющихся акцепторами хлористого водорода, должно исключить протекание процесса гидрохлорирования и повысить чистоту конечных продуктов. К положительным свойствам предложенных трансформеров относится также их безопасность, связанная низкой токсичностью, и образование малого количества не утилизируемых отходов. Благодаря этому разработанные нами трансформеры являются перспективными для дальнейшего практического применения.

Общую схему проведенных превращений можно представить в следующем виде:



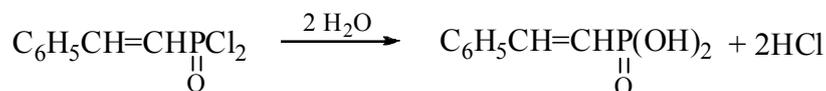
3 а, б: R=(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub> (а), (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub> (б).

Строение дихлорангидрида стирилфосфоновой кислоты было подтверждено данными ИК спектра, а состав – элементным анализом.

Полосы поглощения бензольного кольца и двойной связи проявляются в области 3070, 3040, 1600, 1575, 1490, 1455 см<sup>-1</sup>. Валентные колебания Р=О связи проявляются в виде полосы поглощения с максимумом 1275 см<sup>-1</sup>, а Р-Сl- связей – 525, 475 см<sup>-1</sup>.

#### *Получение стирилфосфоновой кислоты(СФК):*

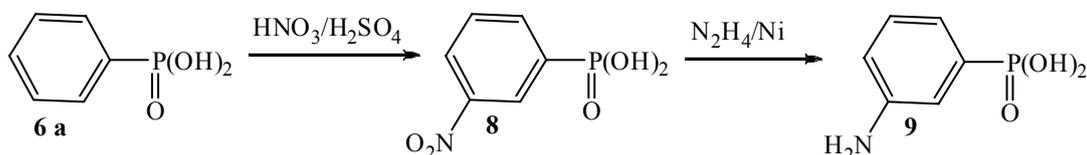
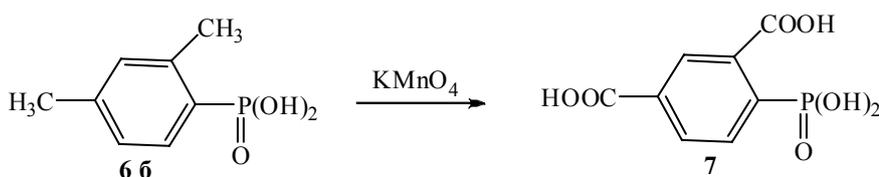
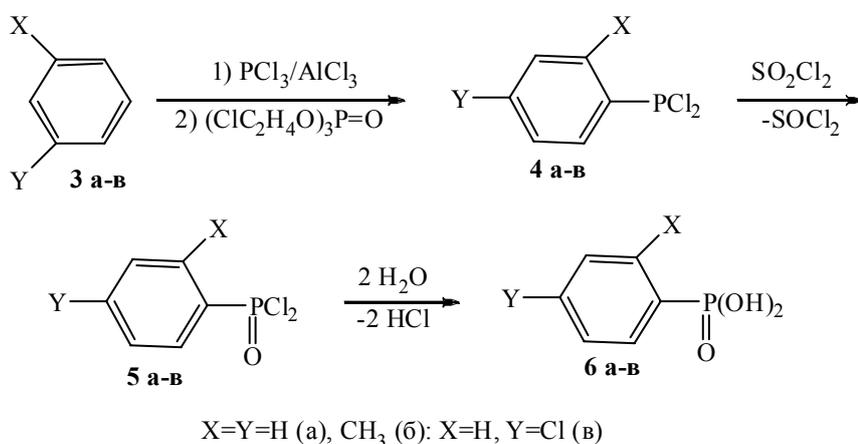
Дихлорангидрид стирилфосфоновой кислоты легко гидролизуется до стирилфосфоновой кислоты. К дихлорангидриду стирилфосфоновой кислоты при охлаждении порциями прибавляли воду. После окончания экзотермической реакции смесь прокипятили и охладили, отфильтровали на воронке Шотта. При охлаждении выпали кристаллы стирилфосфоновой кислоты.



Выявлено стимулирующее действие водного раствора СФК на

лабораторную всхожесть семян, которое сопоставимо по сравнению с известными стимуляторами этрелом, гидрелом и дигидрелом.

Синтезы 3-амино- и 4-хлорфенилфосфоновых, а также 5-фосфонобензол-1.5-дикарбоновой кислот осуществляли по известным методикам [5], которые базируются на первоначальном взаимодействии бензола, хлорбензола или *m*-ксилола (**3 а-в**) с трихлоридом фосфора в присутствии трихлорида алюминия, последующем окислении образующихся арилдихлорфосфинов (**4 а-в**) и гидролизе до арилфосфоновых кислот (**6 а-в**). Для получения 3-аминофенилфосфоновой кислоты (АМФФК) (**9**) проводили нитрование фенилфосфоновой кислоты (**6 а**) и ее восстановление гидразингидратом на никеле Ренея. Для синтеза 4-фосфонобензол-1.3-дикарбоновой кислоты (ФБДКК) (**7**) проводили окисление метильных групп 2,4-диметилфенилфосфоновой кислоты (**6 б**) водным раствором перманганата калия.



Флуоресценцию арилфосфоновых кислот (**2, 6в, 9**) измеряли на люминесцентном микроскопе «Люам-4», светофильтр N 9,  $\lambda=534\pm 9$  нм, запирающий светофильтр ЖС18,  $\lambda_{\text{возбужд.}}=410$  нм, светофильтры ФС, БС, СЗС. Флуориметрию осуществляли с помощью микролюминиметра ФМЭЛ-1А. Электрические параметры при всех флуоресцентных измерениях на всех

замерах определялись следующими параметрами: входное напряжение 900 В, сопротивление усилителя  $10^6$  Ом. В насадке был установлен зонд 1,5. Для измерения использовался ФЭУ-39, показания снимались с цифрового вольтметра. Интенсивность флуоресценции измеряли не менее чем от 10 участков, данные усредняли. Полученные данные представлены на рис. 1-3.

**Результаты и их обсуждение.** Из данных рис. 1-3 следует, что для исследуемых арилфосфоновых кислот наблюдаются два интенсивных пика флуоресценции с  $\lambda$  421, 436,5 нм и как минимум, три гораздо более слабых пика с  $\lambda$  466,5, 507 и 569 нм, т.е. флуоресценция исследуемой кислоты проявляется в фиолетовой, синей, голубой и желто-зеленой областях спектра.

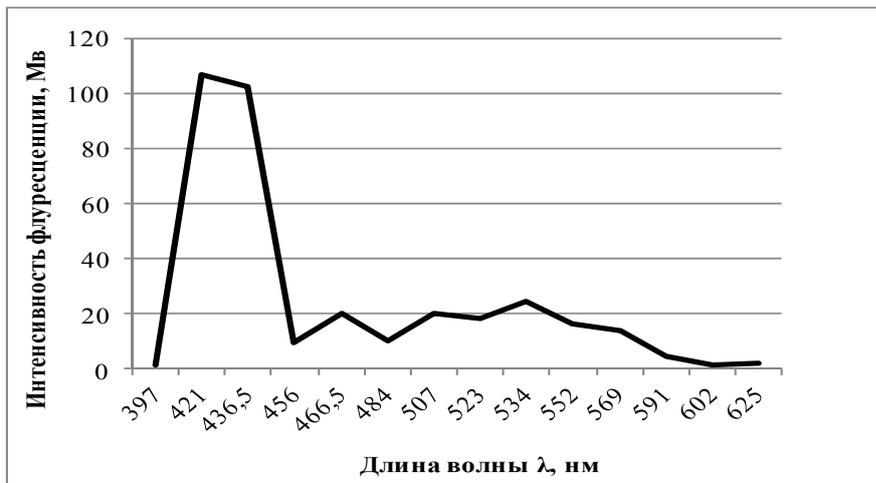


Рис. 1. Спектр флуоресценции стирилфосфоновой кислоты

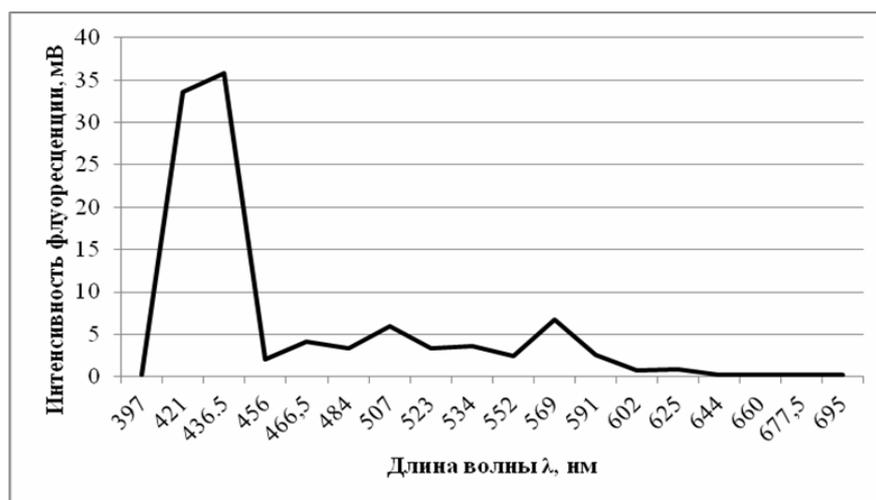


Рис. 2. Спектр флуоресценции 4-хлорфенилфосфоновой кислоты

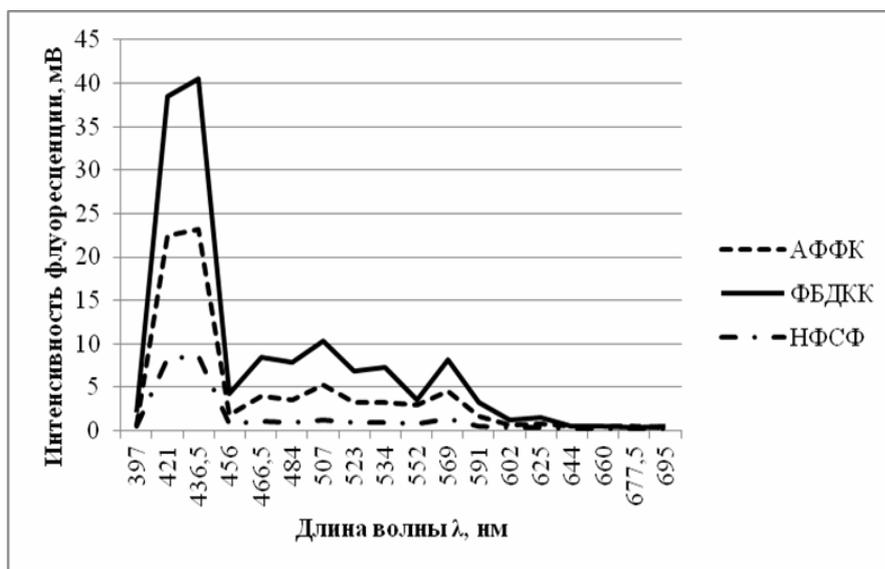


Рис. 3. Спектры флуоресценции кислот (7, 9)

Сравнение флуоресцирующей активности стирилфосфоновой кислоты и ее *n*-нитрофенилового эфира (НФСФ) (рис. 3) показало, что флуоресценция эфира меньше.

Флуоресцирующую активность меньшей интенсивности проявляют также 1% водные растворы стирил- и 3-аминофенилфосфоновых кислот (рис.4).

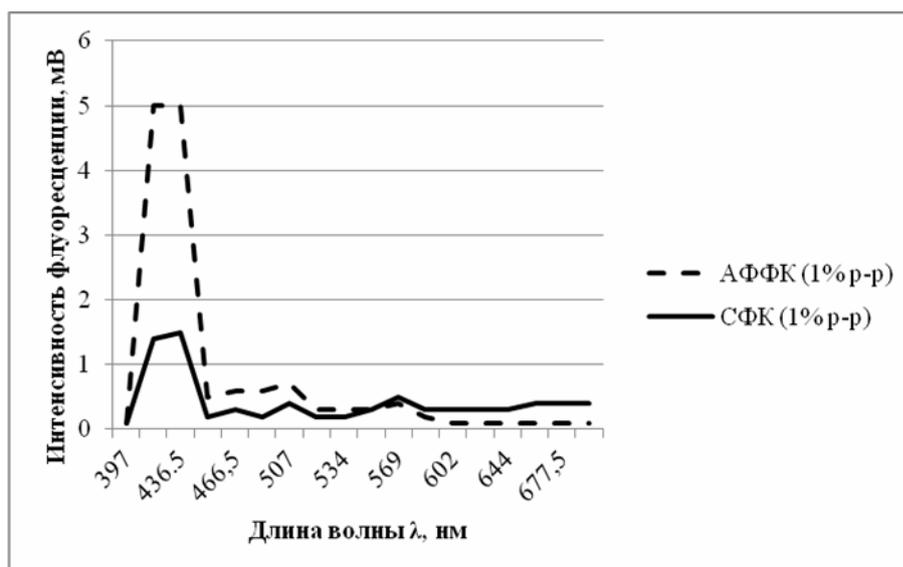


Рис. 4. Спектр флуоресценции водных растворов стирилфосфоновой и 3-аминофенилфосфоновой кислоты

Предположительно, источниками вызванной флуоресценции могут быть сопряженные  $\pi$ -связи бензольного кольца и двойной связи, а также атомы кислорода, азота и хлора с неподелёнными парами электронов, которые могут являться ловушками фотонов. Величина квантового выхода достаточна для того, чтобы продолжить изучение параметров взаимодействия этого вещества с различными основами.

### **Выводы, заключение, перспективы**

1) Предложено использовать основные аминокислоты в качестве эффективных, технологичных и экологически безопасных трансформеров 1-алкенилтрихлорфосфоний гексахлорфосфатов до 1-алкенилдихлорфосфонатов.

2) Выявлено, что стирилфосфоновая кислота с учетом разработанных нами трансформеров становится легко доступным и высокоэффективным веществом, обладающим биологической активностью и флуоресцентными свойствами.

3) Впервые выявлена флуоресцирующая активность арилфосфоновых кислот.

Мы предполагаем, что наши вещества можно использовать для выявления раковых клеток на ранних стадиях болезни.

### **Список цитированных источников**

- [1] Joseph R. Lakowicz. Principles of Fluorescence Spectroscopy / J. R. Lakowicz. – N.Y. : Springer Science, 2006. – 960 p.
- [2] Карнаухов В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки / Карнаухов В. Н. – М. : Наука 1988. – 209 с.
- [3] Степаненко О. В. Флуоресцентные белки: физико-химические свойства и использование в клеточной биологии / О. В. Степаненко, В. В. Верхуша, И. М. Кузнецова, Туроверов К. К. // Цитология. – 2007. – Т. 49. – № 5. – С. 395–420.
- [4] Новые агенты для разложения аддуктов пятихлористого фосфора с органическими соединениями / В. В. Кормачев, Ю. Н. Митрасов, В. А. Кухтин и др. // Журн. общ. химии. – 1981. – Т. 51. – Вып. 4. – С. 960–961.