

新型荧光衍生试剂 2-(2-(1-苊基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯的制备及应用研究

孙志伟^{1,3}, 刘钦泽², 付艳艳², 夏莲^{1,2,3}, 赵先恩⁴, 索有瑞¹, 尤进茂^{1,2}

(1. 中国科学院 西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2 曲阜师范大学 生命有机分析

重点实验室, 山东 曲阜 273165; 3 中国科学院 研究生院, 北京 100049;

4 山东省分析测试中心, 山东 济南 250014)

摘要: 合成表征了标题化合物 (PBITS)。在 DMF 溶剂中以 K_2CO_3 作催化剂, PBITS 与脂肪酸在 90 °C 条件下反应 40 min 可获得稳定的荧光产物。以 PBITS 为柱前衍生试剂, 建立了 20 种饱和脂肪酸的高效液相色谱分析方法。激发和发射波长分别为 350 和 402 nm, 各脂肪酸检出限为 11.4~29.3 ng。对瑞香狼毒根中游离脂肪酸测定结果满意。

关键词: 高效液相色谱-质谱; 荧光检测; 柱前衍生; 脂肪酸

中图分类号: O626 O657.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2010)07-0629-05

脂肪酸 (FA) 广泛分布于自然界中, 是生物体内重要的营养物质和代谢产物, 对调节生物体内各项生理和生物功能起着重要作用。由于这类化合物在紫外-可见光区吸收较弱, 光度法难以准确测定^[1], 通过化学衍生、采用高效液相色谱紫外或荧光检测可实现脂肪酸的高灵敏测定^[2]。苊及其衍生物具有优异的荧光性质, 已报道含苊的羧酸荧光标记试剂有苊基重氮甲烷^[3]、1-溴乙酰苊^[4]和 1-苊甲醇^[5], 但在实际应用中, 存在稳定性差、操作复杂等缺点。本实验合成了新型荧光标记试剂 2-(2-(1-苊基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯 (PBITS), 以 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 作溶剂, 以 K_2CO_3 作催化剂, 在 90 °C 下 PBITS 可

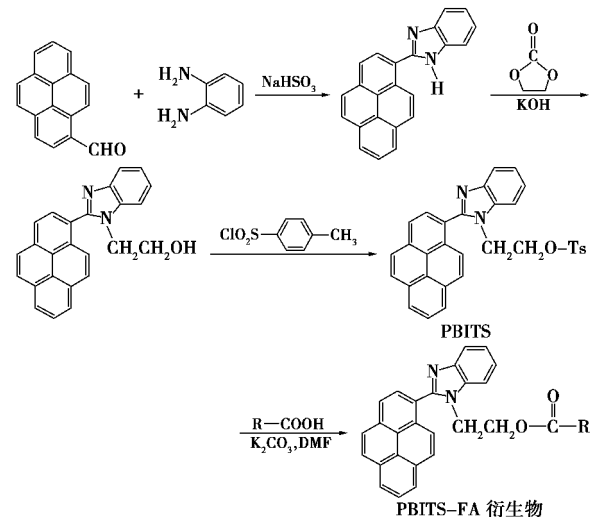
与 FA 生成稳定的荧光产物, 衍生产率高、操作简便, 衍生液可直接进样分析。在激发和发射波长分别为 350 和 402 nm 荧光检测下, 采用梯度洗脱对狼毒根中游离脂肪酸实现了快速、灵敏的测定, 并对实际样品中各衍生组分进行了在线的柱后质谱鉴定, 结果满意。反应路线如左下所示。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

1100 型高效液相色谱-质谱联用仪 (美国 Agilent 公司), 配备荧光检测器、大气压化学电离源 (APCI); Hypersil BDS-C8 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm × 5 μm, 大连依利特分析仪器有限公司); Cary300 紫外可见分光光度计 (美国瓦里安公司); F7000 荧光分光光度计 (日本日立公司); Unity inova-600 MHz 核磁共振波谱仪 (DMF 为溶剂, TMS 为内标, 美国瓦里安公司)。

2-(2-(1-苊基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯 (自制); 20 种脂肪酸标准样品 (上海试剂厂); 乙腈 (ACN, 光谱纯, 德国 Merck 公司); 瑞香狼毒根 (青海); 其他试剂均为分析纯; 水由 Milli-Q 超纯水系统制备, DMF 经减压蒸馏后使用。



PBITS 合成和衍生脂肪酸的反应路线图

Derivatization sketch between PBITS and aliphatic acid

收稿日期: 2009-06-29

基金项目: 中国科学院“百人计划”资助项目 (328)。

作者简介: 孙志伟 (1981-), 男, 山东曲阜人, 博士生, 研究方向为新型荧光衍生试剂的合成及应用。

1.2 标准溶液配制

准确取定量脂肪酸标准品,用光谱纯乙腈配成 10 mmol/L 的溶液(长链脂肪酸需加少量 DMF 助溶)。称取 258.1 mg 2-(2-(1-苄基)苯并咪唑)乙基对甲苯磺酸酯,用 DMF 定容至 10 mL,浓度为 50 mmol/L。相应低浓度的衍生试剂(5.0×10^{-3} mol/L)及低浓度脂肪酸(1.0×10^{-4} mol/L)的标准液分别用 DMF 和光谱纯乙腈稀释而成。

1.3 标准品衍生化

向盛有 10 mg 无水 K_2CO_3 催化剂的 2 mL 安瓿瓶中依次加入 115 μ L DMF、20 μ L (0.1 mmol/L) 混合脂肪酸和 65 μ L (5.0×10^{-3} mol/L) 衍生试剂溶液,封口后于 90 $^{\circ}C$ 恒温水浴下振荡反应 40 min,取出放冷后,加入 200 μ L ACN/DMF 混和液, $V(\text{ACN}):V(\text{DMF}) = 1:1$,稀释后直接进样 10 μ L (50 pmol) 分析。

1.4 色谱与质谱条件

Hypersil BDS-C8 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 200 mm $\times$ 5 μ m)。流动相 A: 20% 乙腈水溶液 (含有 5.0 mmol/L 的 $HCOONH_4$, pH 3.5); B: 80% 的乙腈; C: 10% 的 DMF 乙腈溶液。流速为 1.0 mL/min,柱温 30 $^{\circ}C$ 。荧光激发和发射波长分别为: 350 和 402 nm。梯度条件: 0~15 min 由 40% A + 60% B 梯度到 100% B; 15~30 min 由 100% B 梯度到 100% C,并保持 15 min。

大气压化学电离源 (APCI), 正离子模式, 喷雾压力 0.414 MPa, 干燥气流量为 5 L/min, 干燥气温度 350 $^{\circ}C$, 气化温度 450 $^{\circ}C$, 毛细管电压 3 500 V, 电晕电流 4 000 nA。

1.5 狼毒根中游离脂肪酸的提取

将干燥狼毒根研细后,称取 3.0 g 于 25 mL 容量瓶中,用 10 mL 氯仿浸泡,超声振荡 30 min,过滤,取滤液 5 mL 加 1.6 mL 吡啶超声振荡 30 s,使游离脂肪酸转变为相应的有机盐, N_2 吹干后用 2.5 mL DMF 溶解备用。

2 结果与讨论

2.1 2-(2-(1-苄基)苯并咪唑)乙基对甲苯磺酸酯 (PBITS) 的合成

2.1.1 合成 2-(1-苄基)苯并咪唑 (PBI)

在配置机械搅拌,回流冷凝管,恒压滴液漏斗的 500 mL 三颈烧瓶中加入 4.5 g 邻苯二胺和 50 mL 无水乙醇,加热至回流,并在回流状态下将

5.2 g 亚硫酸氢钠分次投入并缓慢滴加 5.0 g 苄甲醛的 200 mL 乙醇溶液。滴加完毕后回流反应 3 h,将反应液倒入水中,剧烈搅拌,析出大量黄色沉淀。抽滤,水洗,晾干。产品用乙醇/*N,N*-二甲基甲酰胺 DMF ($V:V = 5:1$) 重结晶,得 6.5 g 黄色颗粒状晶体,产率 94.0%。 $^1\text{H NMR}$ (600 MHz $DMSO-d_6$), δ 13.19 (s, 1H, N—H); 7.3~8.6 (m, 13H, Ar—H)。APCIMS (正离子模式), m/z 318.6。元素分析, $C_{23}H_{14}N_2$, 实测值 (计算值), %: C 86.79 (86.77); H 4.43 (4.43); N 8.78 (8.80)。

2.1.2 合成 2-(2-(1-苄基)苯并咪唑)乙醇 (PBE-OH)

在 250 mL 三颈烧瓶中加入 6.18 g 2-(1-苄基)苯并咪唑、2.9 g 碳酸亚乙酯、痕量 KOH 和 80 mL DMF,迅速加热回流 2.5 h。冷却,倒入 800 mL 水中,抽滤,水洗,晾干。产品在乙腈/DMF ($V:V = 2:1$) 中重结晶,得 7.72 g 深黄色颗粒状晶体,产率 80.6%。m.p. 241.5 ~ 242.2 $^{\circ}C$ 。 $^1\text{H NMR}$ (600 MHz $DMSO-d_6$), δ 7.32~8.47 (m, 13H, Ar—H); 4.78 (t, 2H, $J = 6$ Hz, NCH_2); 4.18 (t, 2H, $J = 6$ Hz, CH_2O); 3.50 (t, 1H, $J = 6$ Hz, O—H)。APCIMS (正离子模式), m/z 362.5。MSMS m/z 318.7。元素分析, $C_{25}H_{18}N_2O$, 实测值 (计算值), %: C 82.84 (82.85); H 5.02 (5.01); N 7.71 (7.73)。

2.1.3 合成 2-(2-(1-苄基)苯并咪唑)乙基对甲苯磺酸酯 (PBITS)

在 100 mL 圆底烧瓶中加入 2.6 g 2-(2-(1-苄基)苯并咪唑)乙醇和 60 mL 吡啶,电磁搅拌,冰浴控温,0.5 h 内分次加入 5.0 g 对甲苯磺酰氯,搅拌反应一夜 (约 12 h)。倒入水中,水洗 3 次,晾干,乙腈/DMF 重结晶,得产品重 3.4 g,产率 91%。m.p. ≥ 210 $^{\circ}C$ (分解)。 $^1\text{H NMR}$ (600 MHz $DMSO-d_6$), δ 6.98~8.45 (m, 17H, Ar—H); 4.40 (t, 2H, $J = 4.8$ Hz, NCH_2); 4.08 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz, CH_2O); 2.22 (s, 3H, CH_3)。APCIMS (正离子模式), m/z 516.5。MSMS m/z 318.6。元素分析, $C_{32}H_{24}N_2SO_3$, 实测值 (计算值), %: C 70.42 (74.40); H 4.67 (4.68); N 5.40 (5.42)。IR (KBr), $\nu_{\text{cm}^{-1}}$: 3 043.30 (Ar—H); 2 984.30 (R—H); 1 598.97, 1 527.05, 1 482.94, 1 455.23 (Ph); 1 358.28 (—C—SO₂—); 1 189.75, 1 176.12 (Ph—S—)。

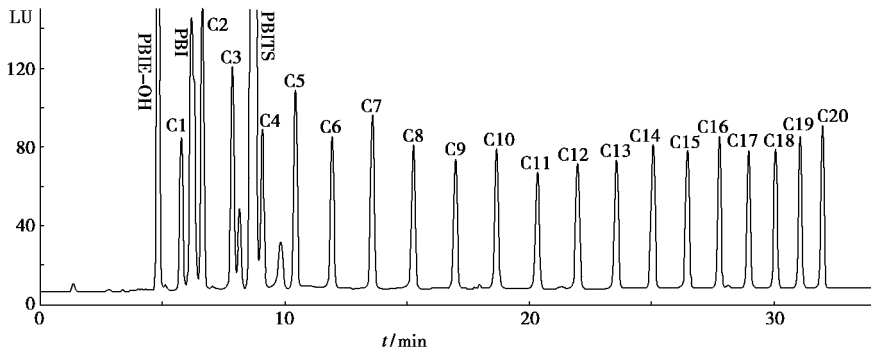
2.2 2-(2-(1-苌基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯的稳定性与光谱性质

2-(2-(1-苌基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯是由 2-(2-(1-苌基)-苯并咪唑)-乙醇与对甲苯磺酰氯在吡啶溶剂中缩合反应而成,产物经水洗后在乙腈中重结晶,获得的产品对常规有机溶剂和水稳定。本试剂的 DMF 溶液,在密闭条件下,在 4℃下保存 0.5 y,经高效液相色谱荧光检测,未发现纯度变化,对脂肪酸的衍生产率未见明显改变。在室温下,用甲醇、乙腈、乙醇和四氢呋喃 4 种溶剂配制 PBITS 溶液进行光谱性质研究,该试剂溶液展现出两个紫外吸收带,分别为 276 和 342 nm,在 4 种溶剂中的最大紫外吸收带未见明显的红移或蓝移。PBITS 在 4 种溶剂中最大吸收波长处的摩尔吸光系数 (ϵ) 为 3.52×10^4 (甲醇

342 nm)、 3.37×10^4 (乙腈 342 nm)、 3.58×10^4 (乙醇 343 nm) 和 4.31×10^4 (四氢呋喃 344 nm) $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。荧光光谱的扫描结果表明: PBITS 最大激发和发射波长分别为 350 和 402 nm,在 4 种溶剂中最大激发和发射波长无明显红移或蓝移。

2.3 衍生条件的优化

PBITS 与脂肪酸的衍生化反应随溶剂的不同,产率有显著差异。根据文献 [6],实验中选取 DMF 作溶剂, K_2CO_3 作碱性催化剂,对温度、时间和试剂用量等几个影响衍生化产率的因素进行了考察,结果表明:衍生化产率随温度升高产率增大,当温度为 90℃时具有最大的检测响应。当衍生时间为 40 min 时,试剂用量为总摩尔数脂肪酸的 8 倍时,具有最大的衍生产率。



C1. 甲酸; C2. 乙酸; C3. 丙酸; C4. 正丁酸; C5. 戊酸; C6. 己酸; C7. 庚酸; C8. 辛酸; C9. 壬酸; C10. 癸酸; C11. 十一酸; C12. 十二酸; C13. 十三酸; C14. 十四酸; C15. 十五酸; C16. 十六酸; C17. 十七酸; C18. 十八酸; C19. 十九酸; C20. 二十酸; PBIE 2-(1-苌基)-苯并咪唑; PBIE-OH: 2-(2-(1-苌基)-苯并咪唑)-乙醇; PBITS: 2-(2-(1-苌基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯

图 1 标准脂肪酸衍生物的色谱分离图 (色谱条件见实验部分)

Fig 1 Chromatogram of fatty acid derivatives

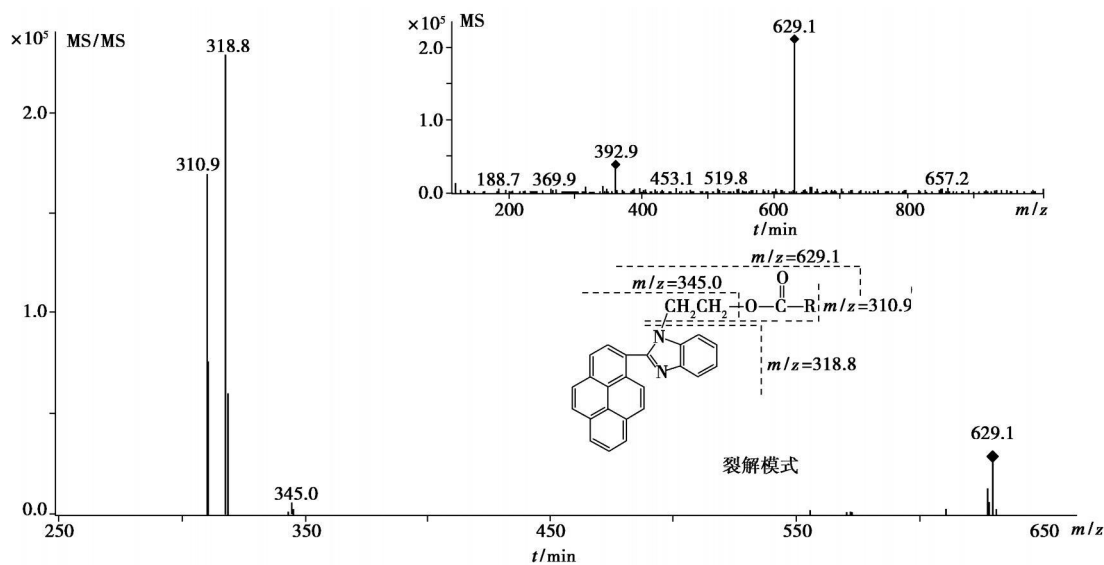


图 2 十八碳酸衍生物一级和二级质谱图和裂解模式

Fig 2 MS and MS/MS data of PBITS-octadecanoic acid derivative

2.4 标准品的色谱分离及质谱鉴定

在 Hypersil BDS-C8 色谱柱 (4.6 mm × 200 mm × 5 μm) 色谱柱上, 采用梯度洗脱在 32 min 内即可实现 20 种直链脂肪酸衍生物 (C1~ C20) 的基线分离, 对 20 种标准脂肪酸衍生物的色谱分离见图 1。主要杂质组分为试剂分解后的 2-(1-苄基) 苄并咪唑 (PBI *m/z* 318.5) 与 2-(2-(1-苄基) 苄并咪唑)-乙醇 (PBE-OH, *m/z* 362.5)。采用大气压化学电离源进行在线的柱后质谱鉴定, 各衍生物显示出强烈的分子离子峰和相应的特征碎片离子峰。以十八酸衍生物为例的质谱裂解模式和质谱见图 2。十八酸衍生物的一级质谱准分子离子峰为 *m/z* 629.1 [M + H]⁺。二级质谱的显示 3 个碎片离子峰, 分别归属如下: *m/z* 318.7 归属于 PBI 母核, *m/z* 345.0 归属于 CH₂CH₂-OCOR 键断裂所得的 [PBI + CH₂CH₂]⁺ 碎片离子; *m/z* 310.9 归属于衍生物失掉 PBI 母核后的碳链部分 [MH - PBI]⁺。

2.5 线性回归方程、检出限及重现性

表 1 脂肪酸衍生物的线性回归方程、相关系数、检出限及保留时间和峰面积的重现性

Tab 1 Linear regression equations, correlation coefficients, detection limits and repeatability for peak area and retention time (n = 6)						
脂肪酸衍生物	回归方程 ^注	相关系数	检出限 / fmol	保留时间 / 相对标准偏差 %	峰面积 / 相对标准偏差 %	峰面积 / 相对标准偏差 %
C1	Y = 96.1X + 3.1	0.999 35	20.4	0.071	0.27	
C2	Y = 129.1X + 2.7	0.999 30	11.4	0.059	0.24	
C3	Y = 102.0X + 118.5	0.999 72	13.9	0.042	0.23	
C4	Y = 75.8X + 68.9	0.999 34	19.4	0.057	0.59	
C5	Y = 93.8X + 49.4	0.999 93	14.6	0.043	0.41	
C6	Y = 76.5X + 1.3	0.999 97	21.0	0.037	0.43	
C7	Y = 86.1X + 2.9	0.999 90	21.0	0.035	0.39	
C8	Y = 73.9X - 4.0	0.999 94	24.9	0.033	0.45	
C9	Y = 66.7X - 8.6	0.999 87	25.6	0.020	0.38	
C10	Y = 70.9X - 4.3	0.999 96	22.8	0.022	0.35	
C11	Y = 60.0X - 4.5	0.999 92	24.8	0.028	0.42	
C12	Y = 64.0X - 3.3	0.999 96	29.3	0.023	0.39	
C13	Y = 65.1X - 3.3	0.999 96	25.6	0.019	0.41	
C14	Y = 70.8X - 5.6	0.999 95	23.4	0.026	0.35	
C15	Y = 66.5X - 6.1	0.999 93	22.8	0.032	0.43	
C16	Y = 70.6X - 5.7	0.999 94	23.4	0.032	0.48	
C17	Y = 61.52X - 4.5	0.999 94	24.9	0.037	0.39	
C18	Y = 59.8X - 4.8	0.999 92	28.3	0.043	0.36	
C19	Y = 62.7X - 4.7	0.999 93	21.0	0.042	0.26	
C20	Y = 65.7X - 4.4	0.999 94	20.1	0.044	0.33	

进样量在 50 pmol~ 48.8 fmol 范围内 (浓度范围在 4.88 nmol/L 5.0 μmol/L), 依据峰面积和实际进样量进行线性回归, 所得各脂肪酸衍生物的回归方程、相关系数和检出限见表 1。各脂肪酸衍生物的线性相关系数均大于 0.999 3, 检出限在 11.4~ 29.3 fmol 之间 (S/N = 3: 1)。在相同洗脱条件下, 对 50 pmol 脂肪酸衍生物平行 6 次测定, 保留时间和峰面积重现性一并列于表 1, 保留时间的相对标准偏差小于 0.07%, 峰面积的相对标准偏差 < 0.59%。

2.6 实际样品测定

按前述实验条件, 狼毒根中脂肪酸衍生物的色谱分离见图 3, 测定结果见表 2。对狼毒根中游离饱和脂肪酸的测定结果表明: 含有偶数碳原子的高碳链饱和脂肪酸如 C16、C18、C20、C22 等的含量相对较高, 在所测定的饱和脂肪酸中十六碳酸含量最高。另外, 质谱鉴定表明狼毒根中还含有碳十八一烯酸 (C18: 1, *m/z* 627.0), 碳十八二烯酸 (C18: 2, *m/z* 625.1), 碳十八三烯酸 (C18: 4, *m/z* 623.1), 碳二十一烯酸 (C20: 1, *m/z* 655.1), 碳二十二一烯酸 (C22: 1, *m/z* 683.0) 等不饱和脂肪酸, 且不饱和脂肪酸含量总量远高于饱和脂肪酸总量。对所有脂肪酸衍生物做面积归一化, 不饱和脂肪酸碳十八一烯酸、碳十八二烯酸和碳十八三烯酸含量分别为 17.6%、43.2% 和 11.3% (含量前 3 位的饱和脂肪酸: 十六碳酸占 15.2%, 十八碳酸占 2.5%, 二十碳酸占 1.3%)。

表 2 实际样品中游离饱和脂肪酸的测定结果^注

Tab 2 Results of saturated free fatty acids from real sample (n = 3)			
各脂肪酸成分含量 / (μg g ⁻¹)		各脂肪酸成分含量 / (μg g ⁻¹)	
脂肪酸		脂肪酸	
C1	#	C11	1.726
C2	#	C12	3.87
C3	#	C13	4.24
C4	#	C14	25.04
C5	28.41	C15	45.47
C6	10.93	C16	1 203.49
C7	12.80	C17	33.11
C8	6.17	C18	175.87
C9	16.21	C19	8.67
C10	16.22	C20	58.18

注: #: 由于干扰, 未准确定量; C1~ C20 均可用 MS 检出。

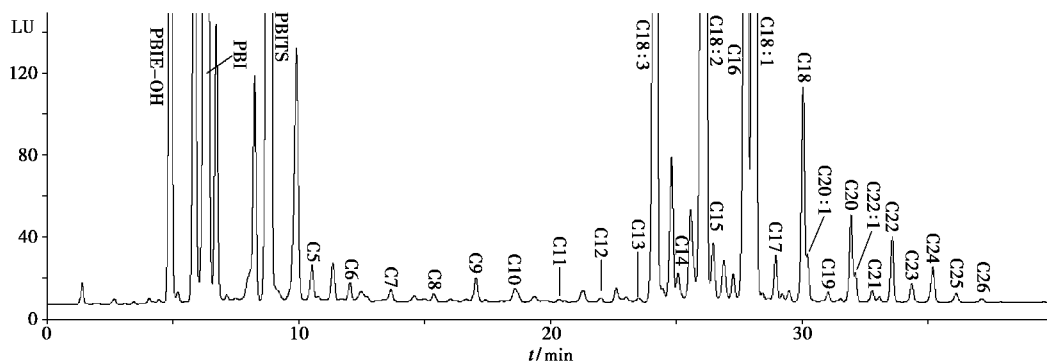


图 3 狼毒根中游离脂肪酸的色谱分离图 (其他条件同图 1)

Fig 3 Chromatogram of free fatty acid from *Stellera chamaejasme* L

3 结论

与已报道的含苊基荧光团的羧酸标记试剂相比, 新型试剂 PBIS 性质稳定, 对各脂肪酸的标记具有灵敏、操作简单和衍生产率高等特性。苊基重氮甲烷稳定性差, 使用前常常需要纯化处理或现用现制。1-苊甲醇以羟基为反应活性基团, 衍生反应需要活化试剂或缩合剂的参与。1-溴乙酰苊对脂肪酸类化合物的衍生过程需在 KOH、冠醚相转移催化剂的存在下于苯或甲苯溶剂中完成, 分离前需预处理, 费时费力。新型试剂 PBIS 与脂肪酸的衍生反应以 *N,N*-二甲基甲酰胺为溶剂, 以 K_2CO_3 作催化剂在 $90^\circ C$ 下可获得稳定的荧光产物。衍生产率高, 操作简便, 衍生液可直接进样分析。另外, PBIS 母体结构中氮原子易于接受质子, 使得 PBIS-FA 衍生物表现出很强的大气压电离质谱信号, 能够实现灵敏的质谱鉴定。本实验采用 2-(2-(1-苊基)-苯并咪唑)-乙基对甲苯磺酸酯作为柱前衍生试剂, 建立了灵敏、快速测定 20 种脂肪酸的方法, 同时实现了在线的质谱鉴定。将方法应用于狼毒根中游离脂肪酸的测定, 结果满意。

参考文献:

- [1] NGALLS S T, MINKLER P E, HOPPEL C L, et al Derivatization of carboxylic acids by reaction with 4'-bromophenacyl trifluoromethanesulfonate prior to determination by high-performance liquid chromatography [J]. *J. Chromatogr.*, 1984, **299**: 365-376
- [2] TOYO'OKA T. Fluorescent tagging of physiologically important carboxylic acids including fatty acids for their detection in liquid chromatography [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2002, **465**(1/2): 111-130
- [3] NMURA N, KNOHITA T, YOSHIDA T, et al 1-Pyrenylhydrazomethane as a fluorescent labeling reagent for liq

uid chromatographic determination of carboxylic acids [J]. *Anal. Chem.*, 1988, **60**(19): 2 067-2 070

- [4] KWAKMAN P J M, VAN SCHAIK H P, BRINKMAN U A T, et al *N*-(Bromoacetyl)-*N'*-[5-(diethylamino)naphthalene-1-sulphonyl] piperazine as a sensitive labeling reagent for the determination of carboxylic acids by liquid chromatography with peroxyoxalate chemiluminescence and fluorescence detection [J]. *Analyst*, 1991, **116**: 1 385-1 391
- [5] JONES O T, LEE A G. Interactions of pyrene derivatives with lipid bilayers and with $(Ca^{2+}-Mg^{2+})$ -ATPase [J]. *Biochemistry*, 1985, **24**(9): 2 195-2 202
- [6] 赵先恩, 李玉林, 索有瑞, 等. 高效液相色谱荧光测定及质谱鉴定土壤和苔藓中的脂肪酸 [J]. *分析化学*, 2006, **34**(2): 150-154

Synthesis of 2-(2-(pyren-1-yl)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)ethyl 4-methyl benzenesulfonate and its application in HPLC analysis of fatty acid as a novel fluorescent labeling reagent SUN Zhiv et^{1,3}, LIU Qirze², FU Yan-yan², XIA Lian^{1,2,3}, ZHAO Xian-en⁴, SUO You-rui¹, YOU Jin-mao^{1,2}
(1. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. College of Chemistry Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, China; 3. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 4. Analysis and Test Center Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China), *Huaxue Shiji* 2010, **32**(7), 629~633, 667

Abstract Twenty fatty acids were derivatized using 2-(2-(pyren-1-yl)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)ethyl 4-methyl benzenesulfonate (PBIS) as novel pre-column derivatization reagent and were separated by HPLC in conjunction with fluorescence detection and MS identification With the addition of 8-fold molar reagent in excess to total molar concentration of

(下转第 667 页)

- [2] KAM I D T, YAMAMOTO R, HARADA H, et al An improved and convenient procedure for the synthesis of 1-substituted imidazoles [J]. *Chem. Pharm. Bull.*, 1983, **31**(4): 1 213-1 221.
- [3] 王磊, 孙兴华. 用 KOH /A l₂O₃ 合成 *N*-烷基咪唑 [J]. 应用化学, 1993, **10**(4): 84-85.
- [4] 郑志兵, 谢云德, 李松. 2-(1-咪唑基)乙酸的新法合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2003, **34**(10): 494.
- [5] 陈宝泉, 李彩文, 雷英杰, 等. 2-(1-咪唑基)乙酸的合成工艺改进 [J]. 精细石油化工, 2007, **24**(2): 16-17.
- [6] ZADERENKO P, G I L M S, BALLESTEROS P, et al Synthesis and regioselective hydrolysis of 2-(imidazol-1-yl)succinic esters [J]. *J. Org. Chem.*, 1994, **59**(21): 6 268-6 273.
- [7] SKUMAR S, MANNE N, RAY P C, et al Synthesis of imidazol-1-yl acetic acid hydrochloride: a key intermediate for zoledronic acid [J]. *Beilstein J. Org. Chem.*, 2008, **4**

(42): 1-4.

- [8] 张志广, 夏然, 渠桂荣. 氯乙酸酯的绿色合成 [J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2007, **35**(4): 92-94.

Green synthesis of alkyl imidazol-1-ylacetates under microwave irradiation in water XU Shao-hong^{*}, YAO Peng (College of Chemistry and Chemical Engineering Xinxing University, Xinxing 453003 China), Huaxue Shiji 2010, **32**(7), 665~ 667

Abstract An efficient method for the synthesis of alkyl imidazol-1-ylacetates from imidazol and chloroacetate in water under microwave irradiation was developed. Using KOH as the base and water as the solvent makes this method eco-friendly and easy to handle with. The product was characterized by ¹H NMR and ¹³C NMR.

Key words water; zoledronic acid; microwave; green synthesis

(上接第 633 页)

fatty acids. PBIFs reacted with fatty acids in the presence of K₂CO₃ catalyst at 90 °C for 40 min in *N,N*-dimethyl formamide solvent to give a maximum and constant fluorescence intensity. The fluorescence excitation and emission wavelengths of derivatives were at λ_{ex} 350 nm and λ_{em} 402 nm, respectively. The identification of fatty acid derivatives was performed by an online atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (APCI/MS) in positive mode.

All linear correlation coefficients for fatty acid derivatives were > 0.999 3, and detection limits (at signal-to-noise of 3:1) were 11.4~ 29.3 fmol for labeled fatty acids. The established method is sensitive and repeatable and has been applied to the determination of free fatty acids from *Stellera chamaejasme* L. samples with satisfactory results.

Key words high performance liquid chromatography-mass spectrometry; fluorescence detection; pre-column derivatization; fatty acids

(上接第 664 页)

Synthesis of a key intermediate of β-lactam of sanfetrinem LU Jia-qing¹, OU Wen-hua², MAO Haifang², PAN Xin-hua^{* 2} (1. College of Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200187, China; 2. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 200235, China), Huaxue Shiji 2010, **32**(7), 661~ 664, 667

Abstract The key intermediate 1, used for the preparation of a new classical β-lactam of sanfetrinem cilexetil was obtained via eight steps starting from *S*-2-methoxycyclohexanone. Thereby the synthetic process, which featured high yield and low production cost, was improved.

Key words β-lactam; sanfetrinem cilexetil; asymmetric synthesis

欢迎订阅《化学试剂》月刊, 欢迎登陆 www.chinareagent.com.cn