

新型咔唑类衍生物的合成、光谱性质及其与 Ct-DNA 作用的研究

简 勇 李 刚 杨 鹏* 邓 拓 周 雪 徐海燕

(基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室 沈阳药科大学 沈阳 110016)

摘要 以咔唑为原料,经 $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ 催化 C—N 键形成、硝化、还原以及 Pd 金属催化 C—N 键偶联等反应合成了一系列新型咔唑衍生物。研究了它们自身在不同溶剂中的紫外吸收和荧光发射光谱以及化合物 **2** 的盐酸盐和 Ct-DNA 相互作用的光谱行为。结果表明,这一系列化合物具有明显的溶致变色效应,其中化合物 **4** 最为显著。Ct-DNA 结合实验表明化合物 **2** 盐酸盐的荧光随着 Ct-DNA 的滴加而线性增强。Ct-DNA 的小沟槽为该分子的主要结合位点,两者的结合能处于 $10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ 级别,属中等强度结合。

关键词 咔唑; C—N 键偶联; 溶致变色; 光谱性质; Ct-DNA

Syntheses, Spectral Properties of Novel Carbazole Derivatives and Evaluations of Its Ct-DNA Interaction

Jian, Yong Li, Gang Yang, Peng* Deng, Tuo Zhou, Xue Xu, Haiyan

(Key Laboratory of Structure-Based Drug Design and Discovery, Ministry of Education, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016)

Abstract A series of carbazole derivatives were synthesized via reactions of C—N bond formation catalyzed by $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$, nitration, reduction as well as Pd-catalyzed C—N crossing coupling, respectively. Their UV-Vis and fluorescence spectra in different solvents were investigated, as well as the evaluation of the interaction between compound **2** hydrochloride and Ct-DNA. The results showed that all compounds exhibited distinct solvatochromism effects and among them, compound **4** was the most obvious one. Upon binding with DNA, the fluorescence of compound **2** hydrochloride turned on, instead of quenching, and the minor groove of DNA is the most possible position for the molecule to bind with. The calculated binding constant is around $10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$, showing a moderate binding affinity.

Keywords carbazole; C—N cross coupling; solvatochromism; spectral properties; Ct-DNA

咔唑衍生物是一类重要的含氮芳杂环有机化合物,分子内含有较大的 π 电子共轭体系和强的分子内电子转移(ICT)特征,这种平面性和刚性稠环结构使其表现出许多独特的物理、化学性质^[1]。因此,其在光电材料^[2~6]、染料^[7~9]、离子识别^[10,11]等领域的优良性能引起了人们极大的兴趣和广泛的研究。另外,近年来也有研究证实,结构合理修饰后的咔唑衍生物也具有良好的生物活性和抗肿瘤性能^[12~14],如:黄志舒等^[13]合成了一系列 3,6 位为乙酰氨基取代的咔唑衍生物,它作为 G-四链体的配体,对正常细胞和癌细胞展示了选择性的抑制

活性;张大钊等^[14]开发的 3,6-二烯基衍生的咔唑衍生物(BMVC),其不但能利用荧光检测四链体脱氧核糖核酸(DNA)结构,而且可以抑制端粒酶活性;贾涛等^[15]在研究了 2,8-二甲基-5H-吡咯[3,2-*c*:4,5-*c'*]二吡啶盐(DPDI)及 2,8-二甲基-5-苯基吡咯[3,2-*c*:4,5-*c'*]二吡啶盐(DPPDI)与 DNA 相互作用后发现,类咔唑衍生物也具有与 DNA 结合性能。这些结果均表明咔唑的 3,6 位点对其与 DNA 的结合性能和光学性能影响显著。因此,本文在咔唑 3,6 位置引入活性基团,即氨基,期待 3,6-二氨基衍生的咔唑也可与 DNA 结合并具有光学响应性能,且也易于被

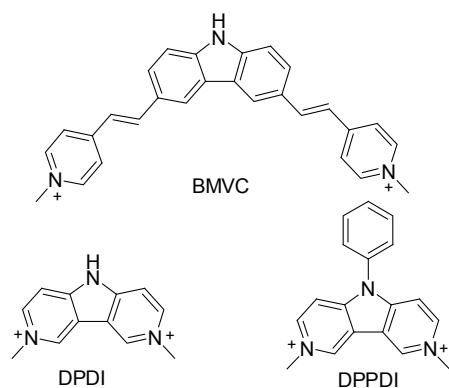
* E-mail: pengyangcn05@hotmail.com

Received September 23, 2013; revised November 18, 2013; published online December 6, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21102095), the Liaoning Provincial Natural Science Foundation (No. 201102209), the Program of Liaoning Excellent Talents in University (No. LJQ2012090), the Liaoning Provincial Postdoctoral Converging Project (No. 2011921013), and the Undergraduates Innovative Entrepreneurship Training Project of Liaoning Province (No. 201210163012).

国家自然科学基金(No. 21102095)、辽宁省自然科学基金(No. 201102209)、辽宁省高校杰出青年学者成长计划(No. LJQ2012090)、辽宁省首批“博士后集聚工程”(No. 2011921013)和辽宁省“大学生创新创业训练计划”(No. 201210163012)资助项目。

进一步改造和衍生(Scheme 1).



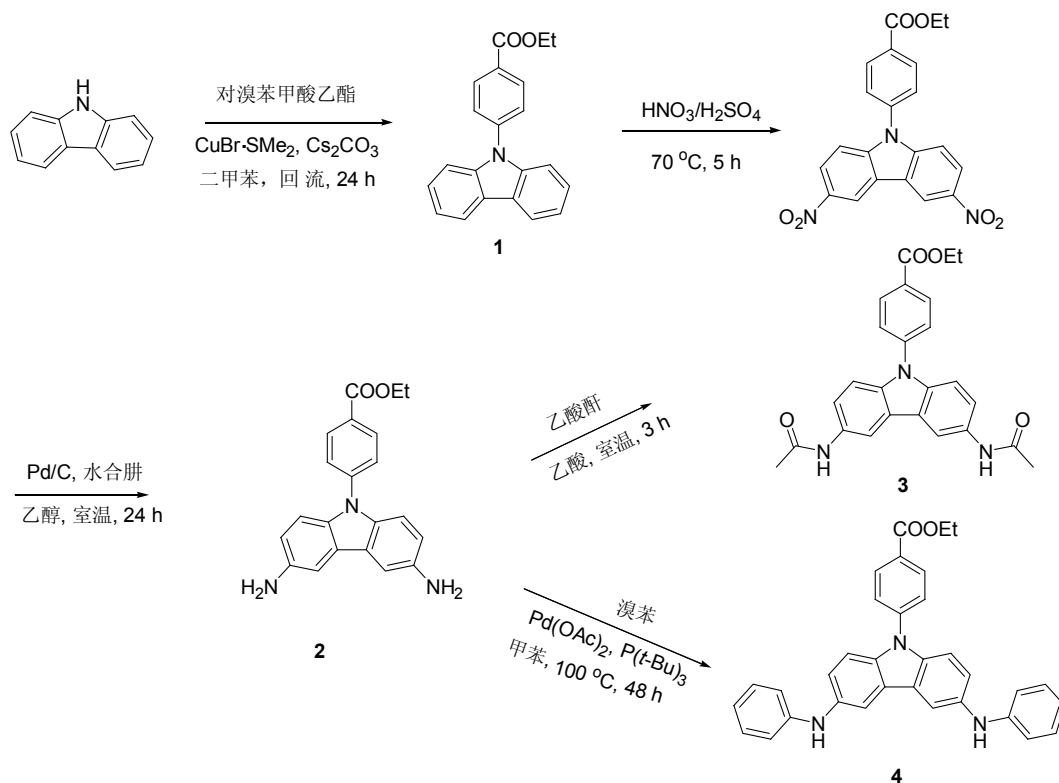
Scheme 1

基于此, 本文以咔唑为起始原料, 根据文献报道以及我们以往的经验^[16,17], 在关键的两步 C—N 键偶联反应中, 分别利用了 $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ (自制)^[18] 和 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 催化合成, 制备了一系列 3,6,9-三取代的咔唑衍生物. 测试了这些化合物的紫外吸收和荧光发射光谱, 同时研究了化合物 **2** 的盐酸盐和 Ct-DNA 的相互作用.

1 结果与讨论

1.1 化合物 1~4 的合成

合成路线^[19,20]如 Scheme 2 所示, 以咔唑为起始原



Scheme 2

料, 在 $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ 的催化下与对溴苯甲酸乙酯形成 C—N 键偶联得到 *N*-(4-(乙氧羰基)苯基)咔唑(**1**), 再经硝化、还原得到 *N*-(4-(乙氧羰基)苯基)-3,6-二氨基咔唑(**2**). 以化合物 **2** 为关键中间体, 分别经乙酰化和 Pd 催化得到未经文献报道的 *N*-(4-(乙氧羰基)苯基)-3,6-二乙酰氨基咔唑(**3**)和 *N*-(4-(乙氧羰基)苯基)-3,6-二苯氨基咔唑(**4**), ^1H NMR, ^{13}C NMR, HRMS 确认了化合物 **1**~**4** 的结构.

在文献[19]的基础上, 我们做了一些改进. 在第一步的合成中, 选用相对廉价的对溴苯甲酸酯及活性较高的 $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ 为催化剂, 该步骤收率达 80.5%, 较该文献有所提高(60%); 第三步的合成中, 我们使用了 Pd/C 和水合肼的催化方式, 也获得了较为理想的收率. 在合成化合物 **4** 时, 我们分别以化合物 **2** 和 **3** 为原料, 先后尝试使用了 Cu, CuI, $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ 等催化剂, 但并未获得成功. 最终确定了使用 $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{P}(t\text{-Bu})_3$ 催化形成 C—N 键的方法, 收率 43.3%.

综上, 该路线证明是一条简便、可行的合成工艺.

1.2 化合物 1~4 在不同溶剂中的光谱性质

化合物 **1**~**4** 在不同溶剂中的紫外吸收和荧光发射光谱见图 1 和 2, 具体数据见表 1.

表 1 数据显示: 在不同极性的溶剂中, 该系列化合物荧光发射波长变化较大. 随着溶剂极性的增加, 它们

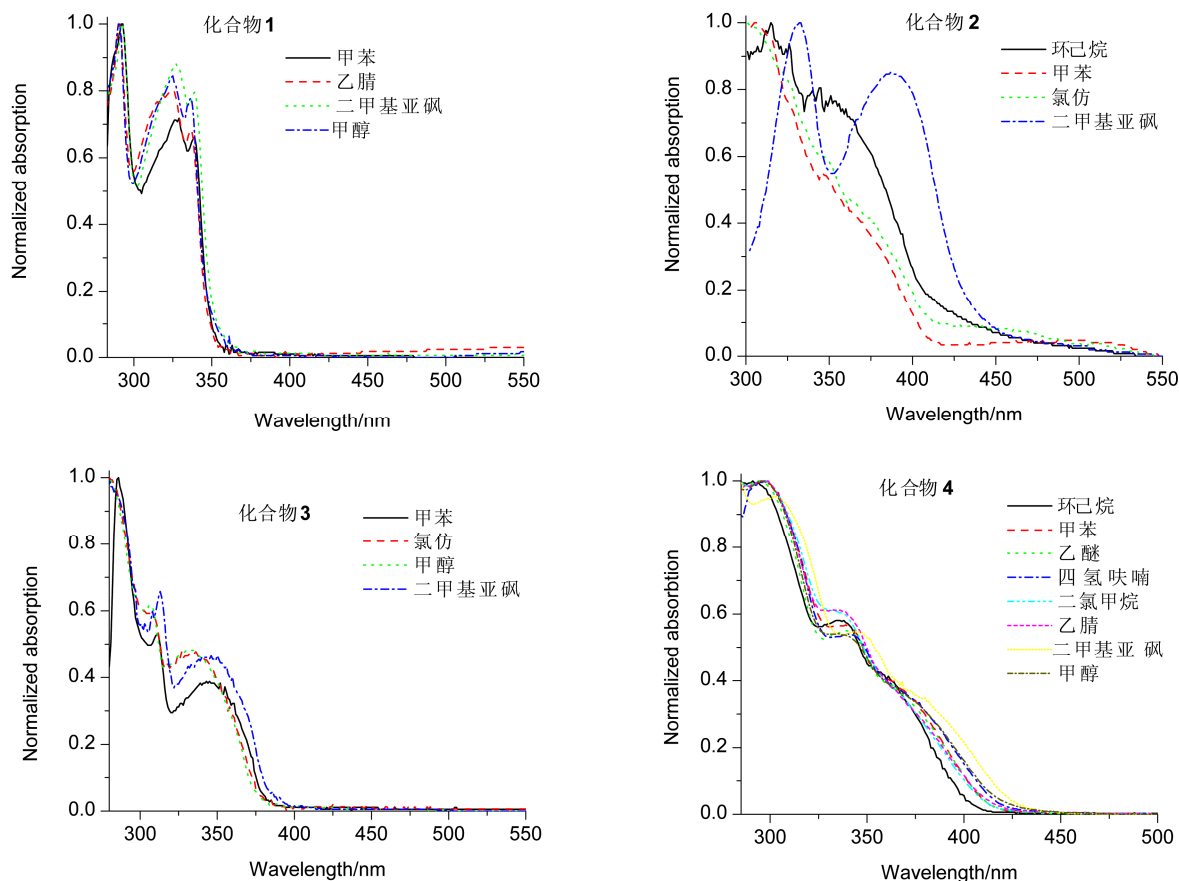


图1 化合物1~4在不同溶剂中的紫外吸收光谱

Figure 1 UV-Vis spectra of compounds 1~4 in different solvents

表1 化合物1~4在不同溶剂中紫外吸收和荧光发射光谱性质

Table 1 The absorption and Fluorescence spectral characteristics of compounds 1~4 in different solvents

Compd.	Solvent	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	$\varepsilon \times 10^{-4}/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	Stoke's shift/nm	ϕ_F
1	C ₇ H ₈	339	1.32	380	50	0.303
	DMSO	339	1.28	446	116	0.066
	CH ₃ OH	337	1.24	471	141	0.032
2	C ₆ H ₁₂	360	1.06	432	64	0.345
	C ₇ H ₈	360	0.65	480	112	0.283
	CHCl ₃	362	0.98	511	143	0.044
3	C ₇ H ₈	345	0.72	431	81	0.372
	CHCl ₃	336	0.76	455	105	0.311
	DMSO	346	0.90	492	142	0.025
4	C ₆ H ₁₂	338	1.90	437	97	0.122
	C ₇ H ₈	339	2.15	482	142	0.116
	(CH ₃ CH ₂) ₂ O	340	2.18	492	152	0.034
	THF	340	2.38	525	185	0.013
	DCM	337	2.85	545	205	0.004

的波长逐渐红移(所展现“荧光颜色”由蓝到红). 另外, 随着溶剂极性的增加, 荧光量子效率逐渐降低; 在相同的溶剂中, 不同化合物的 Stoke's 位移和荧光量子降低的程度均有所不同: 其中化合物 4 的 Stoke's 位移值最

大. 总体而言, 它们的溶致变色效应能力依次是: 4 > 2 > 3 > 1. 图3列举了化合物 4 在不同溶剂中的溶致变色效应(365 nm 波长激发).

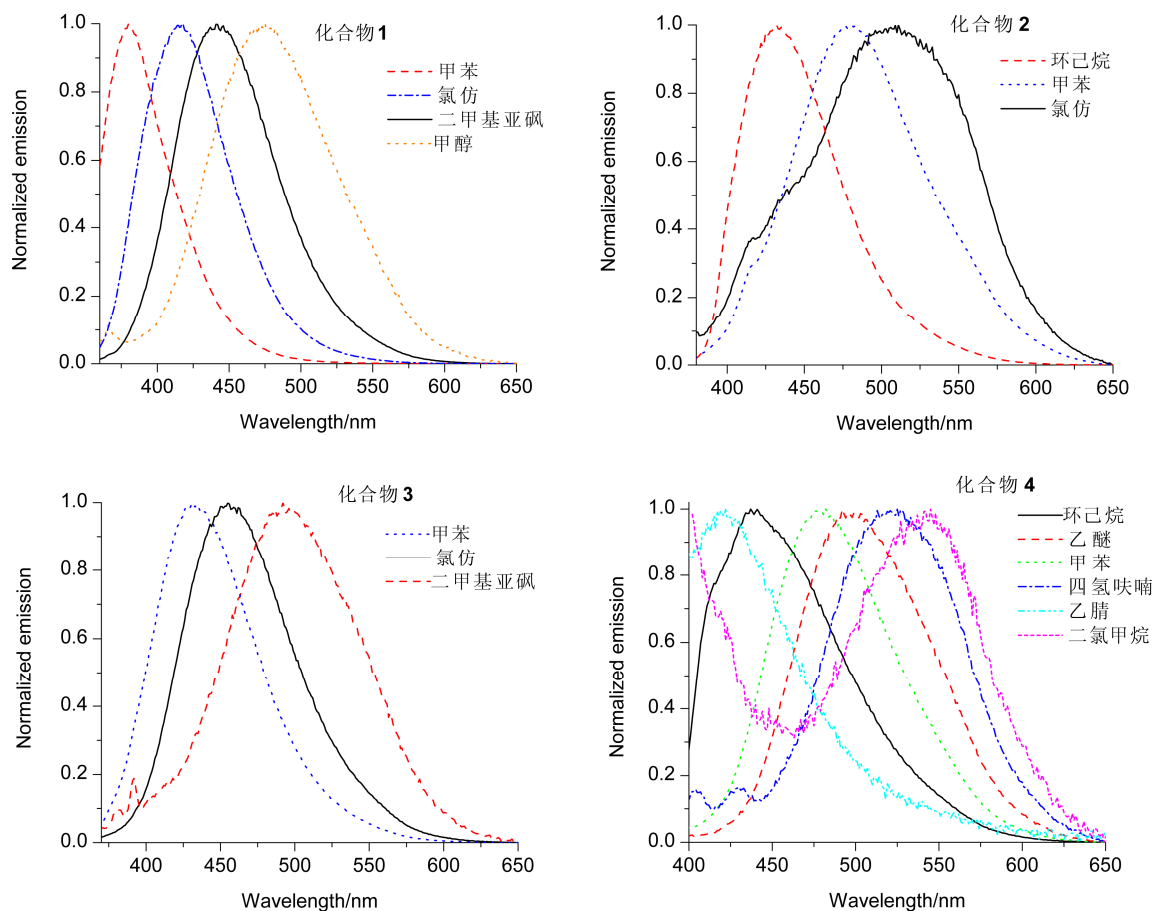


图 2 化合物 1~4 在不同溶剂中的荧光发射光谱(λ_{ex} 依次为 330, 368, 350, 340 nm)

Figure 2 Fluorescence spectra of compounds 1~4 in different solvents (λ_{ex} = 330, 368, 350, 340 nm)

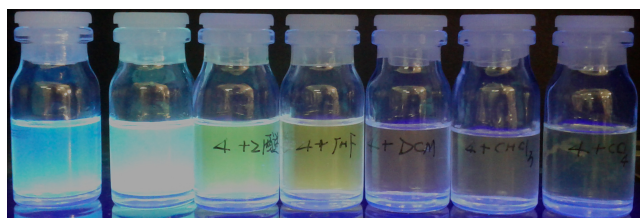


图 3 化合物 4 的溶致变色效应(365 nm 波长激发; 从左至右: 环己烷、甲苯、乙醚、四氢呋喃、二氯甲烷、氯仿、四氯化碳)

Figure 3 Solvatochromism effect for compound 4 (under UV lamp-365 nm excitation; from left to right: cyclohexane, toluene, ether, THF, DCM, chloroform, tetrachloromethane)

以上结果表明, 该系列的化合物具有强烈的分子内电荷转移(ICT)特征. 分子中的咪唑(或 3,6 位取代的咪唑)作为电子供体(D), 而咪唑 9 位 N 上的取代基: 4-(乙氧羰基)苯基为电子受体(A). 3,6 位取代后的咪唑影响了该荧光团基态与激发态的偶极差, 造成了该系列化合物不同程度的正向溶致变色效应.

1.3 化合物 2 的盐酸盐与 Ct-DNA 的相互作用

我们首先测试了化合物 1~4 与 Ct-DNA 相互作用的紫外吸收和荧光发射光谱, 但由于它们在生理条件下溶解能力的限制, 并未获得稳定且可靠的数据. 因此, 我们制备并测试了化合物 2 的盐酸盐与 Ct-DNA 滴定实验的紫外吸收和荧光发射光谱图(图 4). 从紫外吸收光谱可以看出, 随着 Ct-DNA 的加入, 360 nm 处有稍许减色和红移现象(红移 3 nm, 减色率为 24.5%). 通常认为, 当配体与 Ct-DNA 碱基对发生作用时, 其 π^* 空轨道与碱基的 π 电子轨道相互耦合, 能级下降, 导致 π - π^* 跃迁能减小, 产生红移现象. 同时, 耦合后的 π^* 轨道因部分填充电子, 使 π - π^* 跃迁几率减小, 产生减色效应.

Pasternack 等认为^[21], 只有当小分子与 DNA 发生沟槽作用(大沟和小沟)时, 紫外吸收光谱上才能发生红移和减色效应: 当小分子与 DNA 的 G-C 碱基对作用(大沟槽嵌入)时, 红移、减色较为明显; 当这种作用发生在 A-T 碱基对(小沟槽结合)时, 红移和减色效应不如大沟嵌入时变化明显. 该实验中的紫外吸收光谱红移 3 nm,

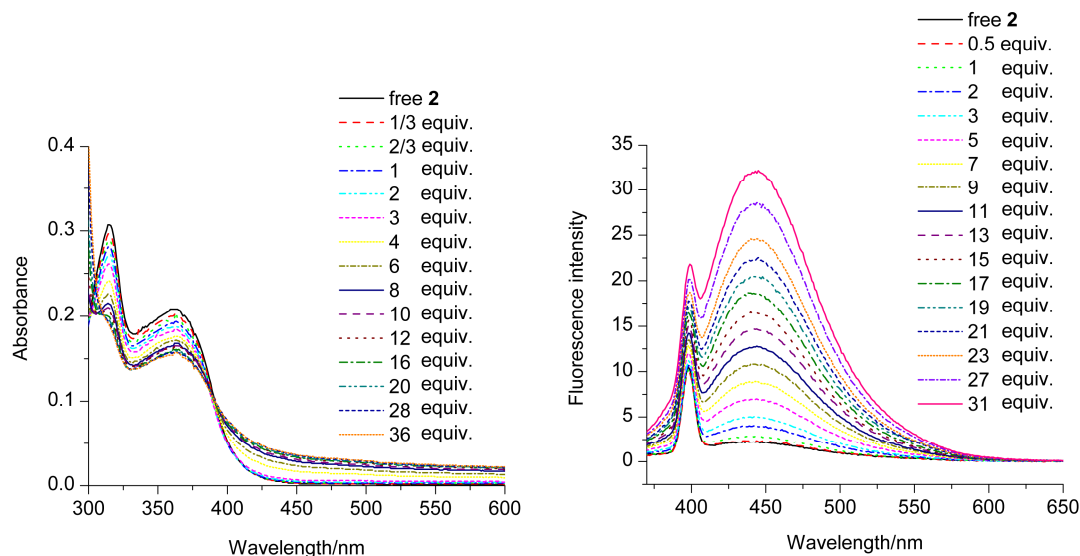


图4 化合物2的盐酸盐与Ct-DNA相互作用的紫外吸收和荧光发射滴定光谱

Figure 4 UV-Vis and fluorescence spectra of the interaction between compound 2 hydrochloride and Ct-DNA

nm, 减色率为 24.5%, 所以我们推测化合物 2 的盐酸盐与 Ct-DNA 的主要作用位点是其富含 A-T 序列的 DNA 的小沟槽部分。

另外, 当小分子并非完全平面刚性结构, 而是具有可形成分子内电荷转移(ICT)的、可扭转结构单元时, 若该分子中咪唑平面(D)嵌入到 Ct-DNA 的大沟中, 即两者作用发生在 DNA 大沟槽部位, 咪唑平面(D)与 9 位 N 原子上的苯环之间(A), 即 D-A 体系之间的转动将受到 DNA 自身构象的影响而发生变化, 分子原有的 ICT 态受到影响, 其荧光波长也将发生相应的变化^[22]; 此外, 化合物 1 (3,6 位点取代基为氢)的溶致变色效应说明此 D-A 体系对微环境(溶剂极性)较为敏感, 而化合物 2(即化合物 1 的 3,6 位点引入氨基), 大大增强了这种对微环境改变的敏感度。因此, 考虑到该化合物对微环境改变的敏感度, 该小分子嵌入到 DNA 大沟槽部位可能性较小。

然而, 根据文献[23], 若两者之间的作用发生在 DNA 小沟槽时, 9 位 N 原子上的取代基是裸露于 Ct-DNA 构象之外, 不被 DNA 自身构象所影响的。由本文图 4 结果可知, 向化合物中滴加 DNA 后, 荧光只发生了强度的变化, 并没有位移的改变。据此, 并根据相应文献[21~25]的报道, 我们认为该分子与 Ct-DNA 的作用位点主要是其小沟槽, 与文献[20]报道的作用模式类似。

Scatchard 方程^[26]常用来计算小分子和生物大分子相互作用。

本文根据紫外吸收滴定数据, 以 r/C_f 对 r 作图, 列于图 5 (C_f 为游离的配合物浓度, r 为结合于 1 mol 的

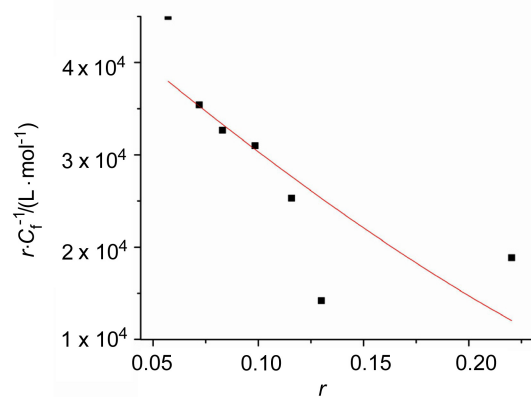


图5 化合物2的盐酸盐和 Ct-DNA 结合的 Scatchard 图

Figure 5 Scatchard plots for the binding of compound 2 hydrochloride with Ct-DNA

Ct-DNA 的配合物摩尔数)。从图中可以看出, 我们对测定的全部数据进行了拟合, 拟合度并不高, 这可能是由于该化合物空间位阻较大, 当 Ct-DNA/化合物比值不大时, 化合物并未与其小沟充分结合, 与 Ct-DNA 结合并不强, 造成数据误差较大; 只有当 Ct-DNA 碱基对 8 倍于化合物(即 $r < 0.125$)时, 才能得到拟合度更高的 Scatchard 方程, 这一点与文献[22]类似。该文献分别对线性较好区域数值和全数据进行了拟合, 比较后发现两者相差较大, 认为前者尽管拟合度较高, 但其数据远不如后者更能够从整体上反映化合物与 Ct-DNA 相互作用的程度。因此, 我们利用 Scatchard 方程拟合所得全部数据, 得出结合常数 K 为 $4.8 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

该化合物与 Ct-DNA 的荧光滴定谱图见图 4。从图中可以看出, 随着 Ct-DNA 的滴加, 荧光不断增强。这

是由于化合物进入到 Ct-DNA 的小沟中, 摆脱了水的溶剂化作用对它荧光的淬灭, 重新收获荧光的结果. 从图中也可以看出, 尽管最终加入 31 倍量的 Ct-DNA, 荧光仍未饱和. 因此我无法利用 Scatchard 方程对其进行拟合. 通过 F/F_0 对 Ct-DNA 碱基对浓度作图后, 我们发现, 两者具有非常好的相关性 ($R=0.999$), 所求得的曲线斜率即为两者的结合能, $K=3.9 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. 这一数据与紫外滴定光谱得到的数据处于同一数量级, 两个光谱的数据吻合度很高, 都验证了该化合物与 Ct-DNA 的结合能不高, 处于中等强度结合.

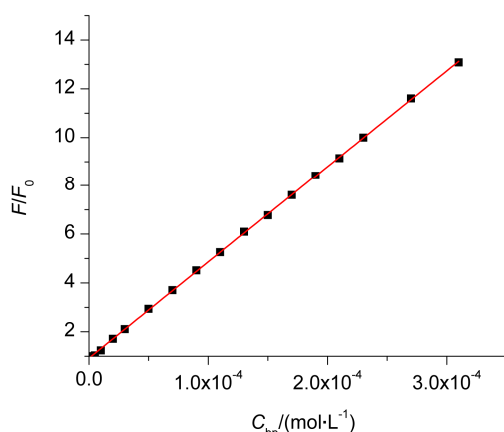


图6 化合物2盐酸盐的相对荧光强度随 Ct-DNA 浓度的变化
Figure 6 Fluorescence relative intensity of compound 2 hydrochloride with the increasing Ct-DNA base pairs

2 结论

合成了一系列咪唑类化合物, 采用 ^1H NMR, ^{13}C NMR, HRMS 表征并确认了其结构. 该系列化合物都具有明显的溶致变色效应. 利用紫外-可见光谱、荧光光谱研究了它们在不同溶剂中的紫外吸收和荧光发射光谱, 并比较了其溶致变色效应的差别. 化合物2的盐酸盐和 Ct-DNA 的相互作用的光谱滴定实验表明, 小分子的结合位点更可能是富含 A-T 序列的 DNA 的小沟槽部分. 紫外和荧光两种滴定光谱拟合的方程都表明, 该分子和 Ct-DNA 两者的结合能处于 $10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 级别, 属于中等强度结合.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

WD9403-F 型紫外仪(北京六一仪器厂)、Bruker 600 M 核磁共振仪(德国 Bruker 公司)、Thermo LCQ FLEET 质谱仪(美国 Thermo 公司)、SpectraMax Paradigm 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)、TU-1810 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)、RF5301 荧光分

光光度计(日本岛津公司)、X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司).

Ct-DNA、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠购自 Sigma 公司, 其余试剂除 $\text{CuBr} \cdot \text{SMe}_2$ 是自制外, 均为分析纯的商品化产品, 未经提纯直接使用.

3.2 合成与表征

3.2.1 中间体 *N*-[4-(乙氧羰基)苯基]咪唑(1)的合成

将对溴苯甲酸乙酯 11.46 g (0.05 mol), 咪唑 8.35 g (0.05 mol), $\text{CuBr} \cdot \text{SMe}_2$ 1.02 g, Cs_2CO_3 24.44 g (0.075 mol) 加入到二甲苯 150 mL 中, 回流 24 h. 减压蒸馏除去对二甲苯, 200~300 目硅胶柱层析 [$V(\text{石油醚}) : V(\text{二氯甲烷}) = 5 : 1$] 得到黄色固体化合物 1 10.25 g, 收率 80.5%. m.p. 98~99 °C (文献值^[27] 97~100 °C); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.29 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 8.13 (dd, $J=7.5, 0.6$ Hz, 2H), 7.65 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.45 (dd, $J=7.9, 0.6$ Hz, 2H), 7.42 (dt, $J=7.7, 0.8$ Hz, 2H), 7.30 (dt, $J=7.5, 0.8$ Hz, 2H), 4.45 (dd, $J=14.4, 7.2$ Hz, 2H), 1.45 (t, $J=7.1$ Hz, 3H).

3.2.2 *N*-[4-(乙氧羰基)苯基]-3,6-二氨基咪唑(2)及其盐酸盐的合成

将 5 g (0.016 mol) 化合物 1 溶于 25 mL 浓硫酸中, 冰浴下滴加 7.5 mL 浓硝酸, 滴加完毕后, 搅拌 0.5 h, 升温至 70 °C, 搅拌 5 h. 降至室温后, 倒入冰水中, 过滤, 水洗, 干燥, 得到黄色的二硝化产物; 将干燥后的二硝化产物溶于 40 mL 乙醇中, 加入 0.5 g 钯碳, 滴加 5 mL 80% 的水合肼, 室温搅拌 24 h, 过滤除去钯碳, 滤液倒入水中, 析出固体, 过滤即得化合物 2 的粗产品, 乙醇重结晶得褐色针状固体 4.54 g, 收率 83.4%. m.p. 168~169 °C; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.15 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 6.72 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 4.86 (br s, 4H), 4.47~4.23 (m, 2H), 1.35 (t, $J=6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.78, 143.23, 143.12, 132.91, 131.41, 126.68, 125.11, 124.75, 115.38, 110.68, 104.32, 61.23, 14.69; HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 346.1556, found 346.1541.

将化合物 2 溶解在少量含有 HCl 的甲醇中, 室温搅拌 1 h, 0 °C 下减压除去溶剂, 得到化合物 2 的盐酸盐.

3.2.3 *N*-[4-(乙氧羰基)苯基]-3,6-二乙酰氨基咪唑(3)的合成

将 100 mg (0.29 mmol) 化合物 2 溶于 5 mL 的乙酸中, 滴加 1 mL 的醋酸酐, 室温搅拌 3 h, 加入冰水中, 过滤, 水洗滤饼, 得白色固体 107 mg, 收率 85.9%. m.p. 172~174 °C; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.06 (s, 2H), 8.46 (s, 2H), 8.21 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=8.6$ Hz,

2H), 7.52 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.46 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.37 (dd, $J=14.1, 7.1$ Hz, 2H), 2.08 (s, 6H), 1.36 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.64, 165.65, 143.06, 136.55, 133.49, 131.58, 126.25, 126.15, 123.50, 119.60, 110.90, 110.53, 61.43, 24.40, 14.67. HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 430.1767, found 430.1742.

3.2.4 N -[4-(乙氧羰基)苯基]-3,6-二苯氨基吡啶(4)的合成

化合物 **2** 40 mg (0.17 mmol), 溴苯 40 mg (0.26 mmol), 醋酸钨 5.2 mg (0.023 mmol), 三叔丁基膦 16.4 mg (0.081 mmol), 碳酸钾 48 mg (0.35 mmol)溶于 15 mL 甲苯中, 100 °C 反应 48 h, 减压蒸出甲苯, 200~300 目硅胶柱层析[V (石油醚): V (二氯甲烷)=1:1]得到化合物 **4**, 黄色粉末状固体 25 mg, 收率 43.3%. m.p. 155~156 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.22 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 8.07 (br s, 2H), 7.84 (d, $J=2.1$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.23 (dd, $J=8.8, 2.2$ Hz, 2H), 7.21~7.15 (m, 4H), 7.02 (d, $J=7.7$ Hz, 4H), 6.73 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 4.38~4.15 (m, 2H), 1.36 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.71, 145.78, 142.24, 137.14, 135.67, 131.57, 129.65, 127.98, 126.04, 124.30, 120.32, 118.93, 115.40, 111.09, 110.56, 61.39, 14.68; HRMS calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 498.2182, found 498.2178.

3.3 光谱实验

3.3.1 化合物 1~4 在不同溶剂中的光谱测定

测试条件均为室温, 样品池为 1 cm×1 cm×4 cm 石英比色皿池, 最大激发和最大发射光谱狭缝宽度为 3.0 nm. 测试化合物 1~4 荧光发射光谱的激发波长分别为: 330, 368, 350 和 340 nm.

此光谱测试实验重复三次, 重现性较好.

3.3.2 化合物 2 的盐酸盐与 Ct-DNA 的作用光谱实验

PBS 缓冲液的配制: 配制 10 mmol/L 的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲液, pH=7.35.

Ct-DNA 溶液的配制: 称取适量 Ct-DNA 溶于一定体积二次蒸馏水中, 4 °C 下保存 24 h 以达到均相. 以吸光度比值 A260/A280 大于 1.8 作为纯度标准, 通过酶标仪来确定 Ct-DNA 浓度, 1 OD=50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 碱基对浓度根据 635 g/mol 来计算^[28].

化合物 **2** 盐酸盐溶液的配制: 将化合物 **2** 的盐酸盐溶于 DMSO 中, 配置成 1.0×10^{-2} mol/L 的储备液, 用 PBS 缓冲液配制成 1.5×10^{-5} 和 1.0×10^{-5} mol/L 的工作溶液.

此光谱测试实验重复三次, 重现性较好.

3.3.3 荧光量子产率的测定

染料的相对荧光量子产率 ϕ 以硫酸奎宁在 0.5 mol/L H_2SO_4 中的荧光量子产率($\phi=0.55$)为参比^[29], 根据下式计算^[30]:

$$\Phi_x = \Phi_s(F_x/F_s)(A_s/A_x)(\lambda_{\text{exs}}/\lambda_{\text{exx}})(n_x/n_s)^2$$

式中, F 为荧光发射光谱积分面积, A 为激发波长处吸收值, λ_{ex} 为激发波长, n 为所用溶剂折射系数, x 和 s 分别为相应的化合物和硫酸奎宁.

此光谱测试实验重复三次, 重现性较好.

辅助材料(Supporting Information) 相关化合物的 ^1H NMR, ^{13}C NMR 以及 HRMS 谱图, 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Dalton, L. R.; Sapochak, L. S. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 2871.
- [2] Galabrese, X. J.; Chem, L. T.; Green, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 227.
- [3] Zhou, G. Y.; Wang, D.; Wang, X. M.; Xu, X. G.; Shao, Z. S.; Zhao, X.; Jiang, M. H. *Opt. Tech.* **2002**, 28, 372 (in Chinese). (周广勇, 王东, 王筱梅, 许心光, 邵宗书, 赵显, 方奇, 蒋民华, 光学技术, **2002**, 28, 372.)
- [4] Kotle, Z.; Segal, J.; Sigalov, M.; Benaasally, A.; Khodorkobsky, A. *Synth. Met.* **2000**, 115.
- [5] Han, L. Z.; Wang, Z.; Hua, Y. J.; Ren, A. M.; Liu, Y. L.; Liu, P. J. *Acta Chim. Sinica* **2012**, 70, 579 (in Chinese). (韩立志, 王卓, 华英杰, 任爱民, 刘艳玲, 刘朋军, 化学学报, **2012**, 70, 579.)
- [6] Zhang, P.; Li, C.; Li, Y. W.; Tu, Y. F. *J. Chin. J. Chem.* **2013**, 2013, 31, 1439.
- [7] Nsib, F.; Ayed, N.; Chevalier, Y. *Dye Pigm.* **2007**, 74, 133.
- [8] Mishra, A. K.; Jacob, J.; Müllen, K. *Dye Pigm.* **2007**, 75, 1.
- [9] Yoon, K. R.; Ko, S. O.; Lee, S. M.; Lee, H. S. *Dye Pigm.* **2007**, 75, 567.
- [10] Curiel, D.; Cowley, A.; Beer, P. D. *Chem. Commun.* **2005**, 236.
- [11] Yu, M.; Lin, H.; Lin, H. *Supramol. Chem.* **2008**, 20, 357.
- [12] Omura, S.; Sasaki, Y.; Iwai, Y.; Takeshima, H. *J. Antibiot.* **1995**, 48, 535.
- [13] Chen, W. J.; Zhou, C. X.; Yao, P. F.; Wang, X. X.; Tan, J. H.; Li, D.; Ou, T. M.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 2829.
- [14] Huang, F. C.; Chang, C. C.; Lou, P. J.; Kuo, I. C.; Chien, C. W.; Chen, C. T.; Shieh, F. Y.; Chang, T. C.; Lin, J. J. *Mol. Cancer Res.* **2008**, 6, 955.
- [15] Jia, T.; Xiang, J.; Wang, J.; Guo, P.; Yu, J. P. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 5512.
- [16] Yang, P.; Yang, Q.; Qian, X. H. *Tetrahedron* **2005**, 61, 11895.
- [17] Monchaud, D.; Yang, P.; Lacroix, L.; Teulade-Fichou, M.-P.; Mergny, J.-L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 4858.
- [18] House, H. O.; Chu, C. Y.; Wilkins, J. M.; Umen, M. *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 1460.
- [19] Kato, Y.; Conn, M. M.; Rebek, Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3279.
- [20] Freeman, H. S.; Butler, J. R. *J. Org. Chem.* **1978**, 26, 4975.
- [21] Pasternack, R. F.; Gibbs, E. J.; Villafranca, J. J. *Biochemistry* **1983**, 22, 2406.

- [22] Pyle, A. M.; Rehmann, J. P.; Meshoyrer, R.; Kumar, C. V.; Turro, N. J.; Barton, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3051.
- [23] Dumat, B.; Bordeau, G.; Faurel-Paul, E.; Mahuteau-Betzer, F.; Saettel, N.; Bombled, M.; Metgé, G.; Charra, F.; Fiorini-Debuisschert, C.; Teulade-Fichou, M. P. *Biochimie* **2011**, *93*, 1209.
- [24] Bag, S. S.; Ghorai, S.; Pradhan, M. K.; Kundu, R.; Jana, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 96.
- [25] Bag, S. S.; Ghorai, S.; Jana, S.; Mukherjee, C. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 5374.
- [26] Lepecq, J. B.; Paoletti, C. *J. Mol. Biol.* **1967**, *27*, 87.
- [27] Dunlop, H. G.; Tucker, S. H. *J. Chem. Soc.* **1939**, 1945.
- [28] Benson, S. C.; Singh, P.; Glazer, A. N. *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 5727.
- [29] Demas, J. N.; Crosby, G. A. *J. Phys. Chem.* **1971**, *75*, 991.
- [30] Karstens, T.; Kobs, K. *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 1871.

(Zhao, X.)