

水溶性萘酰亚胺树形分子的合成及其荧光探针性质

孙京府 钱 鹰*

(东南大学化学化工学院 南京 211189)

摘要 合成了 2 个水溶性萘酰亚胺树形分子叔丁氧基羰基- $\{N,N$ -双 $\{4-\{5-(4$ -叔丁基苯基)-[1,3,4]-噁二唑}-2-苯基}-乙基-1,8-萘酰亚胺}-乙氨基羰基乙基}乙二胺(DON)和 4-哌啶基-9-乙氨基- $\{N,N$ -双 $\{4-\{5-(4$ -叔丁基苯基)-[1,3,4]-噁二唑}-2-苯基}-乙基-1,8-萘酰亚胺}-乙氨基羰基乙基}乙氨基-1,8-萘酰亚胺(DOPN). 并通过核磁氢谱、核磁碳谱及高分辨质谱结构表征. 测定了 DON 及 DOPN 的固体、纯 THF 及水溶液中的荧光光谱, 实验发现暗室中紫外灯下固体 DON 和 DOPN 发出橘黄色荧光, 最大发射波长分别为 566 和 561 nm. 在四氢呋喃(THF)溶液中发出蓝绿色荧光, 最大吸收波长为 360 和 395 nm, 最大发射波长为 489 和 492 nm, 荧光量子产率为 28.2%和 20.4%. 水溶液中最大吸收波长为 367 和 408 nm, 最大发射波长为 563 和 552 nm. 测定了 DON 和 DOPN 与 Hela 细胞共同孵化后在共聚焦荧光显微镜下的细胞成像. 研究了 DON 对 Sn^{2+} 的选择性识别实验, 研究发现, Sn^{2+} 对 DON 有选择性荧光增强, Sn^{2+} 与 DON 配位数为 2. 萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 可溶于水, 具有聚集诱导发光(AIE)性质, 是一种优良的 Sn^{2+} 荧光探针, 可广泛应用于肿瘤定位、药学研究、荧光显微技术及纳米材料研究的应用等重要领域.

关键词 萘酰亚胺树形分子; 聚集诱导荧光; 荧光探针; Sn^{2+} 探针; 细胞成像

Synthesis and Fluorescent Properties of Water-Soluble 1,8-Naphthalimide Dendron

Sun, Jingfu Qian, Ying*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Southeast University, Nanjing 211189)

Abstract Two novel compounds, water-soluble 1,8-naphthalimide dendrons *tert*-butoxycarbonyl- $\{N,N$ -bis $\{3,5$ -bis $\{2$ -(4-*tert*-butylphenyl)-5-[1,3,4]-oxadiazolyl}-styryl-1,8-naphthalimide}-ethylaminocarbonylethyl}ethylamino-1,8-naphthalimide (DON) and 4-piperidyl-9-ethylamino- $\{N,N$ -bis $\{3,5$ -bis $\{2$ -(4-*tert*-butylphenyl)-5-[1,3,4]-oxadiazolyl}-styryl-1,8-naphthalimide}-ethylaminocarbonylethyl}ethylamino-1,8-naphthalimide (DOPN) were synthesized and characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS techniques. Fluorescence spectra of DON and DOPN in solid, tetrahydrofuran and aqueous were measured. The results demonstrated that DON and DOPN performed orange fluorescence in the solid state and the maximum emission wavelength were 566 and 561 nm, respectively. Blue-green fluorescence was observed in tetrahydrofuran (THF) solution. The maximum absorption wavelengths were 399 and 395 nm, the maximum emission wavelengths were 489 and 492 nm, and the quantum yields were 28.2% and 20.4%, respectively. Besides, the maximum absorption wavelengths were 406 and 408 nm, and the maximum emission wavelength were 563 and 552 nm in aqueous. Two water-soluble 1,8-naphthalimide dendrons were applied for fluorescence imaging in Hela living cells. In addition, metal ion probe behavior of DON was detected. And DON exhibited a selectivity for tin ion. With the increasing of concentration of tin ion, fluorescence intensity of DON was enhancing. The number of binding sites between tin ion and DON was 2. In a word, two water-soluble 1,8-naphthalimide dendrons, can be used as a fluorescent probe for detection of tin, and can be further applied in living cell imaging.

Keywords 1,8-naphthalimide; aggregation induced fluorescence; fluorescent probes; tin ion probe; cell imaging.

1,8-萘酰亚胺类衍生物具有刚性平面结构, 大的共轭 π -电子体系, 是非常重要的荧光团, 利用其良好的光物理性质、稳定性、易修饰性和较高的荧光量子产率等

优点, 可广泛应用于荧光探针^[1-3]、荧光传感器^[4,5]、生物荧光标记^[6]及细胞成像技术^[2,3,7-8]等重要领域. *N*-叔丁氧基羰基-*N,N'*-乙氨基羰基乙基-乙二胺(PAMAM)树枝

* E-mail: yingqian@seu.edu.cn

Received November 6, 2014; revised December 15, 2014; published online January 14, 2015.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 61178057).

国家自然科学基金(No. 61178057)资助项目.

状化合物在生物上具有良好的相容性和对细胞低的毒性以及末端的可修饰性强等优点,可用作荧光团的连接^[9,10].而且以 PAMAM 柔性链连接的荧光化合物可以通过多步反应,连接不同种类和数量的荧光团,调控和改善荧光性能,实现荧光共振能量转移(FRET).

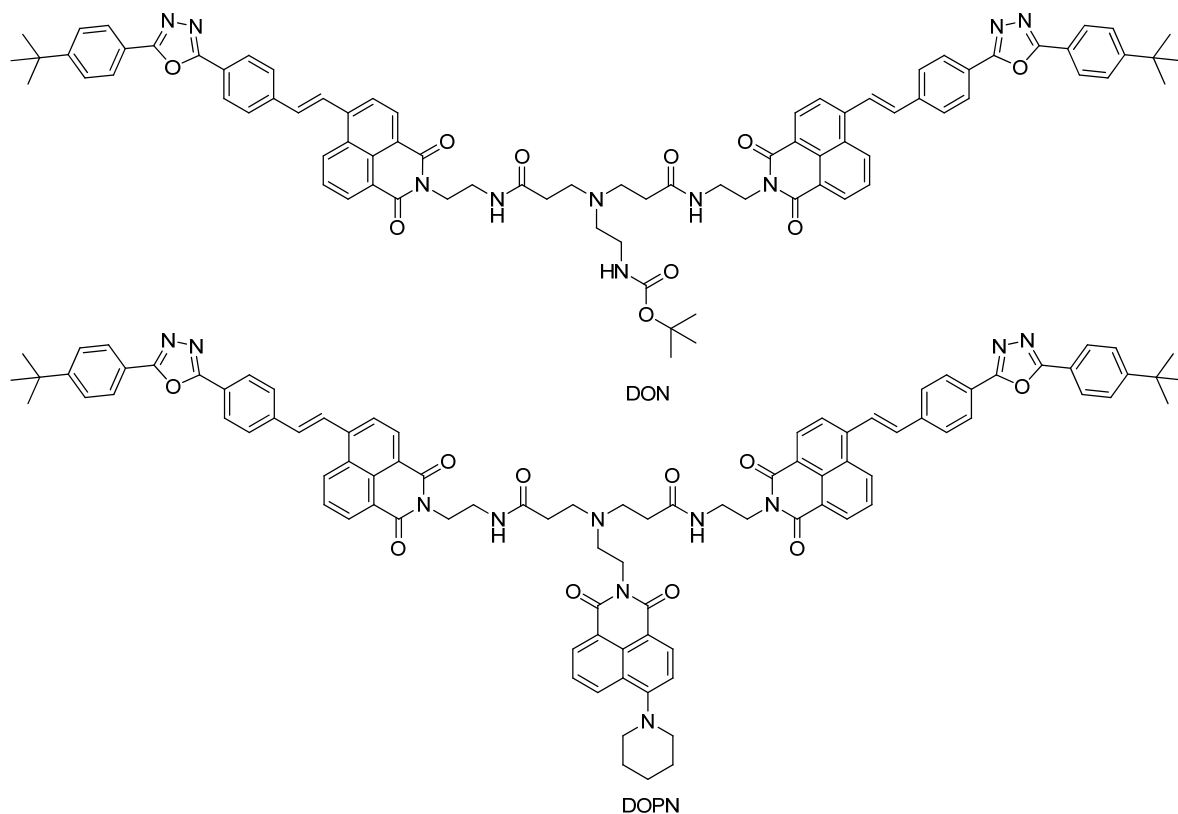
田禾^[11]组报道了一种以 1,8-萘酰亚胺为基本单元的反应型荧光探针,该探针经 Hg^{2+} 诱导,通过分子内环化,形成一种胍基修饰的新型荧光探针,并能够实现化学计量比率检测 Hg^{2+} . Vladimir 等^[12]报道了一种比率型的以 PAMAM 为核的罗丹明-萘酰亚胺荧光探针,该探针以萘酰亚胺为供体,并在萘酰亚胺的 4-位连接修饰基团 *N,N*-二甲基乙二胺,以罗丹明为荧光受体,可通过结合质子实现荧光共振能量转移,实现了荧光探针的“开-关”效应. Ivo 等^[13]报道了一种以 PAMAM 为核, 1,8-萘酰亚胺为结构单元的荧光探针,该探针能够实现对氢离子的检测,对 Sn^{2+} 和 Fe^{3+} 荧光增强,对 Cu^{2+} 则呈现选择性淬灭,并对 Sn^{2+} 与荧光探针作用的光诱导电子转移(PET)机理做了详细的阐述. Yang 等^[14]以 4-氨基-1,8-萘酰亚胺为原料合成了一种新型荧光分子,可实现对 Cd^{2+} 的检测,并可用于细胞成像. 钱旭红组^[15]报道了一种新型的对 Ag^+ 有高度的选择性和灵敏度的荧光探针 NPQ,该探针能够高度选择性识别 Ag^+ , NPQ 与 Ag^+ 形成的 NPQ- Ag^+ 复合物能够选择性识别 I^- ,实现了荧光探

针 NPQ 的“开-关”效应, NPQ 还能够应用于细胞成像,用于检测生物体中 Ag^+ 的含量.

1,8-萘酰亚胺类衍生物在溶液状态下表现出优越的荧光性能,但在聚集状态下,由于聚集诱导荧光淬灭作用,荧光急剧淬灭.因此这类具有聚集诱导发光(AIE)特性^[16~18]的 1,8-萘酰亚胺类衍生物鲜有报道. Pak-kirisamy 等^[19]报道了一类具有聚集诱导荧光增强(AIEE)特性的 1,8-萘酰亚胺衍生物,并利用其聚集诱导发光性质实现了 Hg^{2+} 的定量检测. Matthew 等^[20]报道了一种 1,8-萘酰亚胺与四苯乙烯连接的二联体 TPE-NI,该二联体在不同溶剂中的光谱几乎可以覆盖整个可见光谱,并且,在纳米颗粒状态下表现出良好的聚集诱导发光性质.

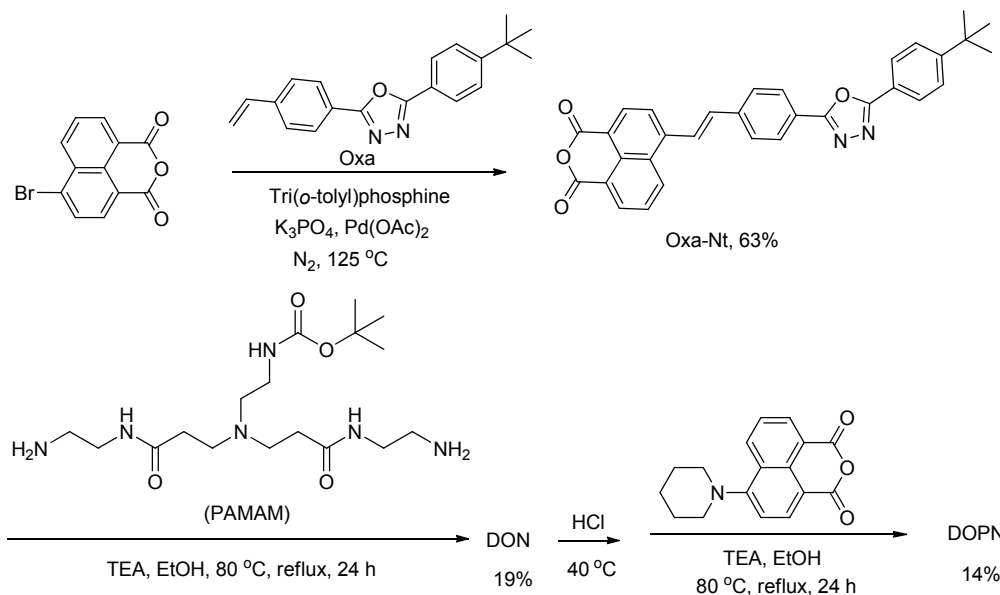
前文^[21]报道了一种以 PAMAM 为核, 1,8-萘酰亚胺为结构单元, 哌啶为端基的荧光探针 BPNAN. 该荧光分子可作为一种优良的 pH 探针、金属离子探针和 ct-DNA 荧光探针. 研究了 2-对叔丁基苯基-5-对乙烯苯基-1,3,4-噁二唑为结构单元的系列化合物的荧光性质^[22~25]. 报道了 9,10-双芳基蒽等共轭分子的聚集诱导荧光性质^[26~28].

本文以 PAMAM 为中心连接基团, 4-溴-1,8-萘二甲酸酐为原料,通过 Heck 反应、缩合反应合成了萘酰亚



图式 1 以 PAMAM 为核的水溶性萘酰亚胺树形荧光分子 DON 和 DOPN 的化学结构式

Scheme 1 Chemical structures of water-soluble naphthalimide dendron fluorescent molecules DON and DOPN with PAMAM nuclear



图式 2 以 PAMAM 为核连接的萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 的合成路线

Scheme 2 Synthetic routes of naphthalimide dendron molecules DON and DOPN with PAMAM nuclear

胺树形分子 DON 及 DOPN (Scheme 1). DON 是以 PAMAM 为核, 2 个 4-{{5-(4-叔丁基苯基)-[1,3,4]-噁二唑}-2-苯基}-乙炔基-1,8-萘酰亚胺(Oxa-Nt)为分支连接而成的树形分子. DOPN 则是 DON 与荧光团 4-哌啶基-1,8-萘酰亚胺连接而成的树形分子. 本文测定了 2 个萘酰亚胺树形分子 DON 及 DOPN 的固体、纯 THF 及水溶液中的荧光光谱, 研究 DON 与 Sn^{2+} 作用的光谱性质. 并研究了 DON 及 DOPN 与 Hela 细胞共同孵化后在共聚焦荧光显微镜下的细胞成像.

1 结果与讨论

1.1 树形萘酰亚胺荧光分子的构筑

水溶性萘酰亚胺荧光分子 DON 是以 PAMAM 为核, 2 个 Oxa-Nt 为荧光团的树形分子. DOPN 是 DON 与 4-哌啶基-1,8-萘二羧酸酐荧光团反应生成的树形分子. Scheme 2 为树形分子 DON 和 DOPN 的合成路线. 以 4-溴-1,8-萘二羧酸酐为原料, 与 2-对叔丁基苯基-5-对乙炔苯基-1,3,4-噁二唑(Oxa)通过 Heck 反应, 生成 4-{{5-(4-叔丁基苯基)-[1,3,4]-噁二唑}-2-苯基}-乙炔基-1,8-萘二羧酸酐(Oxa-Nt), 经 PAMAM 树枝化, 得到双臂树形分子叔丁氧基羰基- $\{N,N$ -双{4-{{5-(4-叔丁基苯基)-[1,3,4]-噁二唑}-2-苯基}-乙炔基-1,8-萘酰亚胺}-乙氨基羰乙基}乙二胺(DON), 再经酸处理与 4-哌啶基-1,8-萘二羧酸酐反应得三臂树形分子 4-哌啶基-9-乙氨基- $\{N,N$ -双{4-{{5-(4-叔丁基苯基)-[1,3,4]-噁二唑}-2-苯基}-乙炔基-1,8-萘酰亚胺}-乙氨基羰乙基}乙氨基-1,8-萘酰亚胺(DOPN).

1.2 水溶性萘酰亚胺树形分子在固态及水溶液中的荧光性质

实验发现萘酰亚胺树形分子 DON 及 DOPN 具有明显的聚集诱导发光特性. 图 1 是树形分子 DON 及 DOPN 在固体及四氢呋喃溶液中的荧光光谱. 固态时, 树形分子 DON 和 DOPN 的最大荧光发射波长分别为 566 和 561 nm, 暗室里在 365 nm 紫外灯下呈橘红色荧光. 在 THF 溶液中, 双臂萘酰亚胺分子 DON 的最大吸收波长为 360 nm, 最大荧光发射波长为 489 nm, 荧光量子产率为 28.2%, 三臂萘酰亚胺分子 DOPN 的最大吸收波长为 395 nm, 最大荧光发射波长为 492 nm, 荧光量子产率为 20.4%. 将三臂萘酰亚胺树形分子 DOPN 与双臂萘酰亚胺分子 DON 比较, 实验研究发现 DOPN 没有明显的荧光共振能量转移.

图 2 为萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 在含水量不同的四氢呋喃和水的混合溶液中的荧光光谱. 随着含水量的增加, 在 60%和 90%含水量时, 双臂萘酰亚胺分子 DON 的最大荧光发射波长为 524 和 566 nm, 最大吸收波长为 365 和 371 nm, 三臂萘酰亚胺分子 DOPN 的最大荧光发射波长为 510 和 551 nm, 最大吸收波长均为 410 nm. 在纯水溶液中, DON 和 DOPN 的最大荧光发射波长则分别为 563 和 552 nm, 最大吸收波长为 367 和 406 nm. 随着水含量的增加, 萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 荧光发射波长红移, 荧光强度降低. 表 1 为水溶性萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 在固体及不同含水量的 THF/ H_2O 混合溶液中的光谱数据.

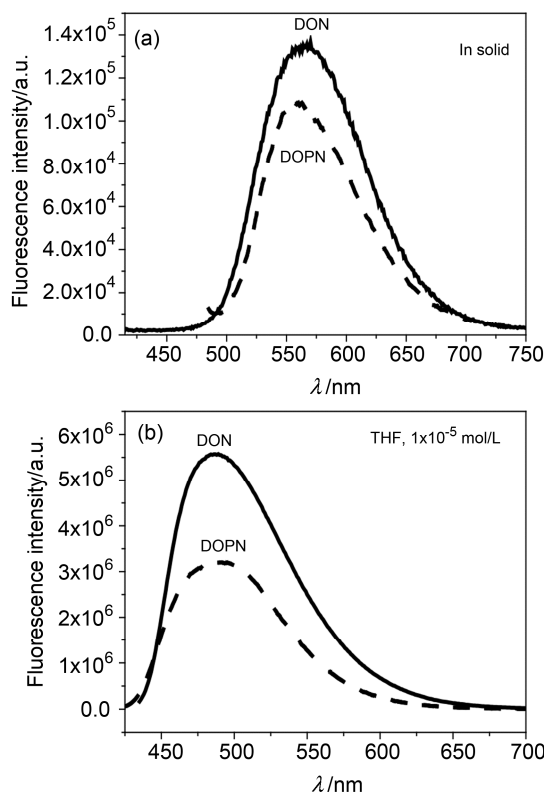


图1 萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 的固体(a)及四氢呋喃(b)溶液中的荧光光谱

Figure 1 Fluorescence spectral of naphthalimide dendron molecules DON and DOPN in solid (a) and in the tetrahydrofuran solution (b)

1.3 水溶性萘酰亚胺树形荧光分子的细胞成像实验

将2个萘酰亚胺树形荧光分子 DON 和 DOPN 分别与 Hela 细胞共同孵育, 研究了其与 Hela 细胞共同孵育后在共聚焦荧光显微镜下的细胞成像。

图3为 Hela 细胞分别与荧光探针 DON 和 DOPN 共同孵育后的激光共聚焦荧光照片。先用适量的磷酸缓冲溶液(PBS)洗涤培养好的 Hela 细胞, 再加入 1 mL PBS 缓冲液, 然后分别加入 50 μL 20 $\mu\text{mol/L}$ 的荧光探针 DON 和 DOPN, 共同孵育 15 min 后, 移除比色皿中的溶液, 用适量的 PBS 缓冲液洗涤, 再加入 1 mL PBS 缓冲液。设定激发波长为 405 nm, 用共聚焦荧光显微镜拍照。可以观察到, 加入荧光探针孵育后的 Hela 细胞在激光共聚焦荧光显微镜下可以清晰成像, 实验表明萘酰亚胺树形荧光分子 DON 和 DOPN 可以用于细胞的染色, 以蓝光形式呈现出细胞的形态, 可用于肿瘤定位、药学研究及荧光显微成像等重要领域。

1.4 水溶性萘酰亚胺树形分子的 Sn^{2+} 探针行为

锡金属广泛用于食品工业中的罐头包装, 过量的锡造成了环境的污染, 影响人体健康, 诱发身体疾病^[29]。

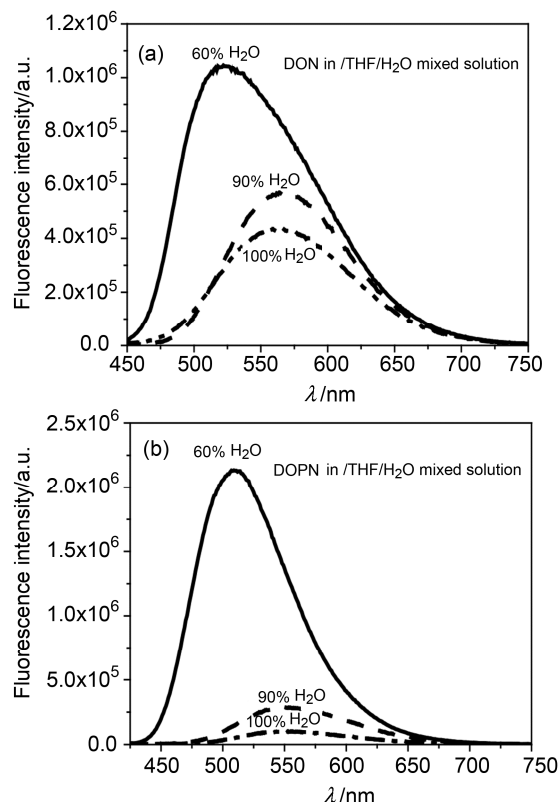


图2 水溶性萘酰亚胺树形分子 DON (a)和 DOPN (b)在不同含水量的 THF/ H_2O 混合溶液中的荧光光谱

Figure 2 Fluorescence spectral of water-soluble naphthalimide dendron molecules DON (a) and DOPN (b) in different THF/ H_2O mixed solution

表1 水溶性萘酰亚胺树形分子 DON 和 DOPN 在固体及不同含水量的 THF/ H_2O 的混合溶液中的光谱数据^a

Table 1 Spectral data of water-soluble naphthalimide dendron molecules DON and DOPN in solid and in different THF/ H_2O mixed solution

编号	$\lambda_{\text{em}}(\text{solid})$	$\lambda_{\text{em}}/\lambda_{\text{abs}}(\text{THF})$	$\lambda_{\text{em}}/\lambda_{\text{abs}}(\text{H}_2\text{O})$		
			60% ^a	90% ^a	100% ^a
DON	566	489/360	524/365	566/371	563/367
DOPN	561	492/395	510/401	551/401	552/406

^a 60%, 90%, 100%分别为在含水量为 60%, 90%, 100%的 THF/ H_2O 混合溶液中的最大荧光发射峰和最大吸收峰。

本文报道了水溶性萘酰亚胺树形分子 DON 可作为 Sn^{2+} 荧光探针。

图4(a)为在四氢呋喃和水体积比为 1:9 的混合溶液中, 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 中加入 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ag^+ , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sn^{2+} , Sn^{4+} 离子后的荧光光谱图。图4(b)为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 中加入 0.1~1000 $\mu\text{mol/L}$ 的 Sn^{2+} 后的荧光光谱。图5(a)为 DON 与 Sn^{2+} 络合的工作曲线, 图5(b)为通过方程拟合得到的 DON 与 Sn^{2+} 的荧光滴定曲线线性图。以 400 nm 作为激发波长, 狭缝宽度为 2 nm, 测定了不同金属离子

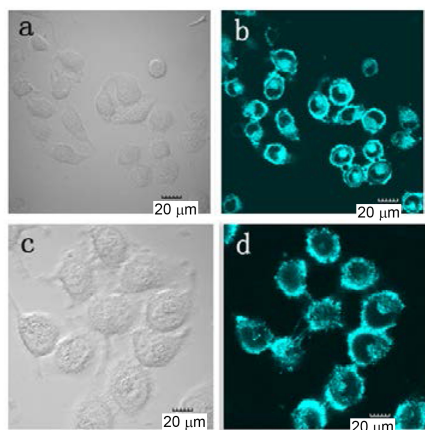


图3 DON, DOPN 分别与Hela细胞共同孵化后的激光共聚焦荧光显微镜照片(激发波长为405 nm)

Figure 3 Laser confocal fluorescence microscope photos of DON and DOPN co-incubation with Hela cells (excitation wavelength 405 nm)

(a) cells photo of DON in bright field; (b) fluorescence photograph of DON in blue field; (c) cells photo of DOPN in bright field; (d) fluorescence photograph of DOPN in blue field

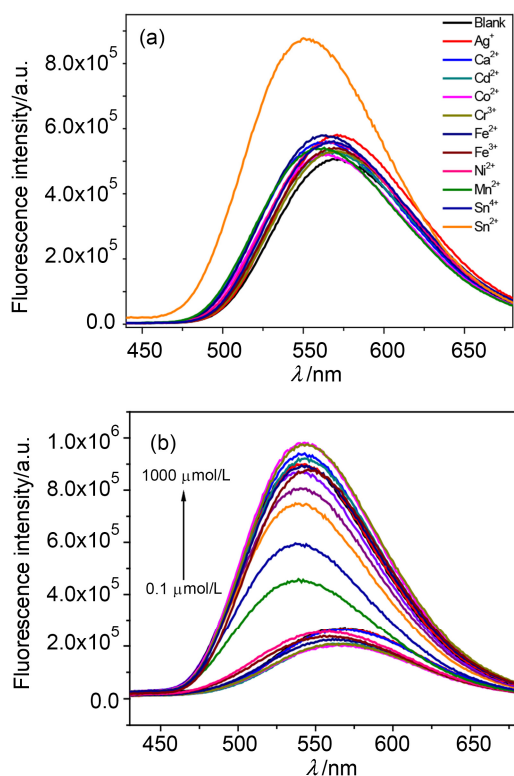


图4 在 $V_{\text{THF}/\text{H}_2\text{O}}=1:9$ 溶液中, DON (10 $\mu\text{mol/L}$) 中加入不同金属离子(20 $\mu\text{mol/L}$)后的荧光光谱($\lambda_{\text{ex}}=400$ nm)图(a)及 DON 中加入不同浓度 Sn^{2+} (0.1~1000 $\mu\text{mol/L}$)后的荧光光谱图(b)

Figure 4 Fluorescence spectral of DON (10 $\mu\text{mol/L}$, $\lambda_{\text{ex}}=400$ nm) under different metal ion (20 $\mu\text{mol/L}$) (a) and different concentrations of Sn^{2+} (0.1~1000 $\mu\text{mol/L}$) (b)

对化合物 DON 的依赖关系, 结果发现在含水量为 90%

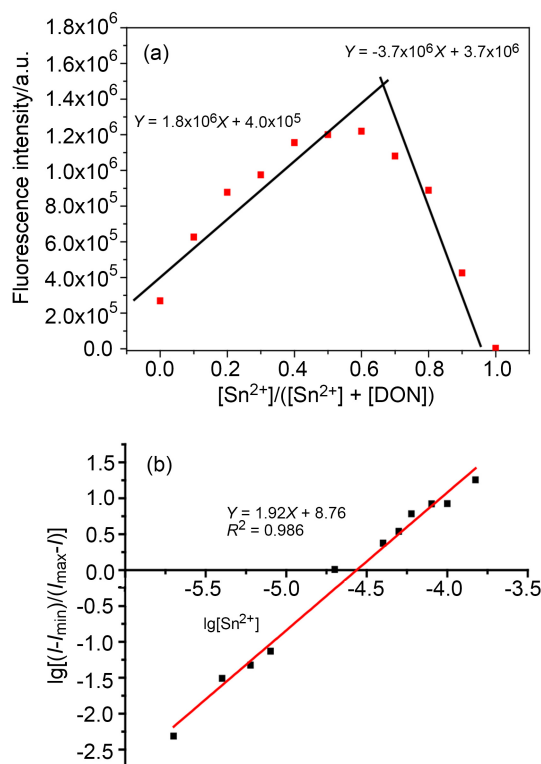


图5 DON 与 Sn^{2+} 络合的工作曲线(a)及荧光滴定曲线线性图(b)

Figure 5 Jobs plot between Sn^{2+} and DON(a) and fluorescence titration curve DON and Sn^{2+} in $V_{\text{THF}/\text{H}_2\text{O}}=1:9$ mixed solution (b)

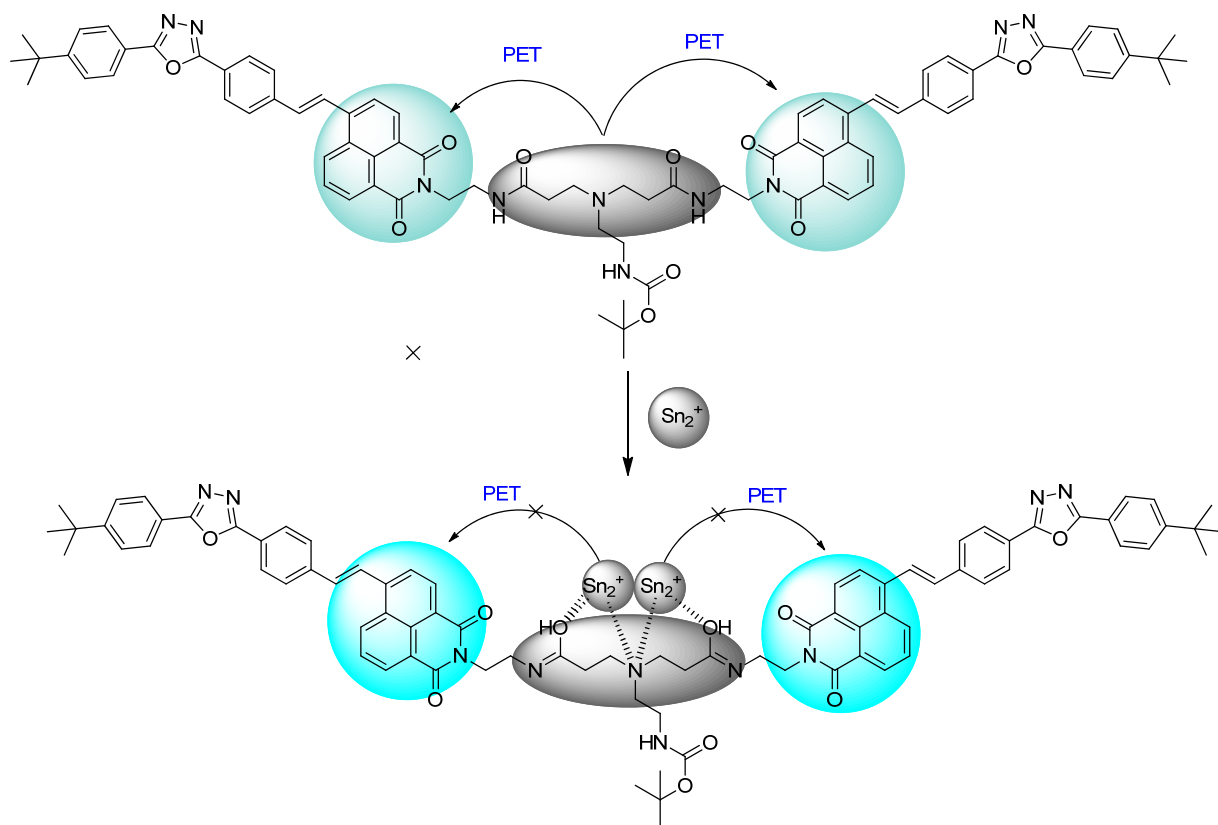
的混合溶液体系下, DON 对 Sn^{2+} 有选择性识别.

为了进一步说明 Sn^{2+} 对 DON 的依赖关系, 本实验测定了 DON 与 Sn^{2+} 络合的工作曲线及加入不同浓度 Sn^{2+} 时 DON 的荧光光谱变化, 并通过方程计算了 Sn^{2+} 与 DON 的配位数. 结果表明, 通过拟合荧光强度变化对 $\lg[\text{Sn}^{2+}]$ 作图, 可以得到方程为: $Y=1.92X+8.76$, 即 Sn^{2+} 与 DON 形成 2:1 络合物. 金属离子与探针分子配位数的计算公式^[30]为:

$$\lg \left(\frac{R-R_{\min}}{R_{\max}-R} \right) = \lg K_s + n \lg [M^{n+}] \quad (1)$$

其中方程(1)中 $R_{\min}$, $R_{\max}$, R 分别为空白、加入最大量的 Sn^{2+} , 以及加入一定量的 Sn^{2+} 时的最大发射波长处的荧光强度, K_s 为络合常数, n 为自由 Sn^{2+} 与荧光探针的配位数, $[M^{n+}]$ 为游离的 Sn^{2+} 的浓度.

Sn^{2+} 与 DON 形成 2:1 络合物, 加入 Sn^{2+} 后, 化合物 DON 的荧光强度增强, 其机理如 Scheme 3 所示. 加入 Sn^{2+} 前, 在光激发下, 荧光团羰基上的电子被激发, 从最高占据轨道(HOMO)跃迁至最低空轨道(LUMO), 形成激发态, 处于基态的聚酰胺叔胺上 HOMO 能



Scheme 3 Sn^{2+} 与水溶性萘酰亚胺荧光探针 DON 作用的机理模型图

Scheme 3 The mechanism model of Sn^{2+} with water-soluble naphthalimide fluorescent probe DON

量上的电子转移到荧光团萘酰亚胺半空的 HOMO 上, 阻止了萘酰亚胺上电子从 LUMO 返回 HOMO, 荧光团萘酰亚胺荧光较弱, 即发生了光致电子转移(PET)过程. 加入 Sn^{2+} 后, 阻断了 PET 的发生, 萘酰亚胺树形分子 DON 的荧光增强.

2 结论

本文以 4-溴-1,8-萘酐为原料, 通过 Heck 反应、缩合反应合成了水溶性萘酰亚胺树形分子 DON 及 DOPN, 并通过核磁氢谱、核磁碳谱及高分辨质谱的结构表征. 测定了 DON 及 DOPN 的固体、纯 THF 及在不同含水量的水溶液中的荧光光谱. DON 和 DOPN 具有明显的聚集诱导发光特性, 暗室里紫外灯下, 固态时 DON 和 DOPN 呈橘红色荧光, 四氢呋喃溶液中为蓝绿色荧光, 水溶液中为黄色荧光. 在四氢呋喃和水的混合溶液中, 随着含水量的增加, 荧光发射峰红移, 荧光强度减弱. 测试了水溶性萘酰亚胺树形分子 DON 对 Sn^{2+} 的选择性识别实验, 在含水量为 90% 的四氢呋喃和水混合溶液下, Sn^{2+} 对萘酰亚胺树形荧光分子 DON 有选择性荧光增强, Sn^{2+} 与 DON 的配位数为 2, 是一种优良的锡离子荧光探针. 将水溶性萘酰亚胺荧光分子 DON 和 DOPN 分别与 Hela 细胞共同孵化, 测试了在共聚焦荧光显微

镜下的细胞成像, 可广泛应用于肿瘤定位、药学研究、荧光显微技术及纳米材料研究的应用等重要领域.

3.1 仪器与试剂

实验中使用的 4-溴-1,8-萘酐购自萨恩化学技术(上海)有限公司, 使用前用冰醋酸重结晶提纯; 六氢吡啶购自广东汕头市西陇化工厂, 分析纯. 其它药品和试剂均购自国药集团化学试剂有限公司, 分析纯, 使用前已进一步纯化. 2-对叔丁基苯基-5-对乙烯苯基-1,3,4-噁二唑(Oxa)^[31,32]、4-哌啶基-1,8-萘二甲酸酐^[33]及 PAMAM 树枝^[33]参考文献合成方法合成.

熔点由 X4 型显微熔点仪测定; ^1H NMR 在 Bruker AV-300 MHz 核磁共振仪上测得; ^{13}C NMR 在 Bruker AV-300 MHz 核磁共振仪上测得; HRMS 在德国 Bruker Ultraflex-MAIDI-TOF 质谱仪(α -HCCA 为基质, HP 模式)上测得. 紫外-可见吸收光谱在 SHIMADZU UV-2450 型紫外可见分光光度计上测得; 荧光光谱 Edinburgh FLS-920 型荧光光谱仪测定.

细胞成像用到的 DON 和 DOPN 的浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$, PBS 缓冲液浓度为 0.01 mol/L; Sn^{2+} 荧光探针实验中, DON 和 DOPN 的浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, Ag^+ , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Sn^{2+} , Sn^{4+} 金属离子浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$.

3.2 树枝分子的制备和表征

3.2.1 化合物 Oxa-Nt 的制备及表征

N_2 保护下, 在 2.52 g (8.28 mmol) Oxa, 2.02 g (7.29 mmol) 4-溴-1,8-萘二甲酸酐的 20 mL DMF 溶液中, 加入 1.96 g (9.25 mmol) 磷酸钾, 0.0180 g (0.0802 mmol) 乙酸钨, 0.0481 g (0.158 mmol) 三(邻甲基苯基)膦, 磁力搅拌下, 油浴升温至 125 $^{\circ}C$, 回流反应 24 h, 趁热将液体过滤到 100 mL 的无水甲醇中, 有黄色固体析出, 抽滤, 干燥, 得 2.30 g 黄色粉末状固体 Oxa-Nt, 产率 63%. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.73~8.64 (m, 3H), 8.24 (d, $J=7.83$ Hz, 2H), 8.10 (d, $J=7.86$ Hz, 2H), 8.04 (d, $J=15.96$ Hz, 1H), 7.90 (t, $J=7.56$, 8.10 Hz, 1H), 7.83 (d, $J=7.95$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J=8.16$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J=16.11$ Hz, 1H), 1.39 (s, 9H).

3.2.2 化合物 DON 的制备及表征

在 1.84 g (3.68 mol) Oxa-Nt, 0.65 g (1.68 mol) 化合物 PAMAM 的 100 mL 无水乙醇溶液中, 滴加 2 滴三乙胺, 磁力搅拌下回流反应 72 h, 反应结束后, 用旋转蒸发仪除去过量的无水乙醇, 色谱柱提纯, 得 0.43 g 橘黄色固体 DON, 产率 19%, m.p. 193~195 $^{\circ}C$; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.34 (d, $J=7.11$ Hz, 2H), 8.29 (d, $J=7.17$ Hz, 2H), 8.16 (d, $J=8.43$ Hz, 2H), 8.04 (d, $J=8.01$ Hz, 2H), 7.96 (d, $J=8.19$ Hz, 4H), 7.68 (d, $J=7.80$ Hz, 2H), 7.62~7.53 (m, 9H), 7.47 (t, $J=8.64$ Hz, 6H), 7.04 (d, $J=15.87$ Hz, 2H), 5.80 (s, 1H), 4.16 (s, 4H), 3.64 (s, 4H), 3.24 (s, 2H), 2.60 (s, 4H), 2.47 (s, 2H), 2.31 (s, 4H), 1.41 (s, 9H), 1.34 (s, 18H); ^{13}C NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.7, 164.6, 164.2, 163.9, 155.4, 140.0, 139.1, 133.4, 131.0, 130.7, 129.3, 129.0, 128.2, 127.5, 127.2, 126.7, 126.0, 124.4, 123.9, 123.5, 122.4, 121.2, 120.7, 52.4, 49.4, 39.8, 38.4, 35.1, 32.8, 31.1, 28.5. HRMS calcd for $C_{81}H_{81}N_{10}O_{10}$ $[M+H]^+$: 1353.6132; found 1353.6177.

3.2.3 化合物 DOPN 的制备及表征

在 0.30 g (0.222 mmol) DON 的 50 mL 无水甲醇溶液中, 滴加 4 mL 的浓盐酸, 升温至 40 $^{\circ}C$, 磁力搅拌下反应 24 h, 反应结束后, 旋蒸除掉过量的无水甲醇, 所得产品直接用于下一部反应. 向上述所得产品中加入 0.50 g (1.78 mmol) 4-吡啶基-1,8-萘二甲酸酐的 100 mL 的无水乙醇溶液, 磁力搅拌下, 滴加适量的三乙胺至溶液的 pH 为 8, 回流反应 24 h, 反应结束后, 用旋转蒸发仪除去过量的无水乙醇, 再向所得固体中加入适量的水, 用二氯甲烷萃取 2~3 次, 旋干, 所得黄色固体用层析柱进一步提纯, 得 0.0500 g 黄色固体, 产率 14%. m.p. 233~235 $^{\circ}C$. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.50~8.47 (m, 1H), 8.42~8.39 (d, $J=8.19$ Hz, 1H), 8.35~8.30 (m, 2H),

8.28~8.17 (m, 6H), 8.05~8.02 (d, $J=8.19$ Hz, 4H), 7.96~7.93 (d, $J=8.43$ Hz, 3H), 7.84~7.81 (m, 1H), 7.65~7.54 (m, 6H), 7.50~7.39 (m, 10H), 7.12~7.09 (d, $J=8.16$ Hz, 0.28H), 7.01~6.95 (d, $J=15.96$ Hz, 2H), 6.90~6.88 (d, $J=8.13$ Hz, 0.62H), 4.28~4.16 (m, 4H), 4.09~4.04 (m, 2H), 3.50~3.48 (m, 4H), 3.20 (t, $J=5.13$, 5.43 Hz, 1H), 3.12~3.08 (m, 1H), 3.03~3.00 (m, 2H), 2.80~2.72 (m, 1H), 2.64~2.61 (m, 1H), 2.32~2.30 (m, 2H), 1.81~1.77 (m, 12H), 1.29 (s, 18H); ^{13}C NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 164.3, 163.7, 163.4, 163.2, 155.0, 139.6, 138.9, 133.0, 130.6, 130.2, 128.8, 128.6, 127.8, 127.1, 126.8, 126.3, 125.6, 124.8, 124.3, 123.5, 123.2, 122.2, 120.4, 114.1, 54.0, 49.7, 39.3, 37.5, 34.6, 30.6, 29.2, 25.6, 23.8. HRMS calcd for $C_{93}H_{86}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$: 1516.6554; found 1516.6562.

致谢 感谢国家自然科学基金的支持(No. 61178057), 感谢国家纳米科学中心杨洋和刘惠玲在细胞成像上提供的帮助.

辅助材料(Supporting Information) 所合成的目标化合物的核磁共振氢谱、核磁共振碳谱及高分辨质谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Duke, R. M.; Gunnlaugsson, T. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 8043.
- [2] Zhu, L.; Yuan, Z.; J. Tyler, S.; Kesavapillai, S. *RSC Adv.* **2014**, 4, 20398.
- [3] Xu, Z.-C.; Juyoung, Y.; David, R. S. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 1996.
- [4] Xuan-Anh, T.; Victor, A.; Paolo, B.; Bernadette, T. S. B.; Karsten, H. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, 64, 359.
- [5] Gan, J.-A.; Song, Q.-L.; Hou, X.-Y.; Chen, K.-C.; Tian, H. *J. Photochem. Photobiol. A* **2004**, 162, 399.
- [6] Jin, P.-W.; Jiao, C.-H.; Guo, Z.-Q.; He, Y.; Zhu, S.-Q.; Tian, H.; Zhu, W.-H. *Chem. Sci.* **2014**, 5, 4012.
- [7] Liu, X.-L.; Du, X.-J.; Dai, C.-G.; Song, Q.-H. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 9481.
- [8] Liu, Y.-B.; Liu, Y.-W.; Liu, W.; Liang, S.-C. *Spectrochim. Acta, A* **2015**, 137, 509.
- [9] Liu, Y.; Sun, K.-X.; Yao, W.-J.; Liang, N.; Mu, H.-J.; Liang, R.-C.; Yao, C. *Chem. J. Chin. Univ.* **2010**, 31, 800 (in Chinese). (刘毅, 孙考祥, 姚文军, 梁娜, 慕宏杰, 梁荣才, 姚晨, 高等学校化学学报, **2010**, 31, 800.)
- [10] Zeng, Y.; Li, Y.-Y.; Yuan, Z.; Li, Y. *Acta Chim. Sinica* **2009**, 67, 2714 (in Chinese). (曾毅, 李迎迎, 袁钊, 李娜, 化学学报, **2009**, 67, 2714.)
- [11] Liu, B.; Tian, H. *Chem. Commun.* **2005**, 3156.
- [12] Khalid, A. A.; Nikolai, I. G.; Samy, A. E.-D.; Layla, A. T.; Vladimir, B. B. *J. Lumin.* **2015**, 158, 50.
- [13] Stanislava, Y.; Ivo, G.; Stanimir, S.; Ivan, P. *J. Photochem. Photobi-*

- ol. A* **2014**, 283, 1.
- [14] Liu, D.; Qi, J.; Liu, X.-Y.; Cui, Z.-G.; Chang, H.-X.; Chen, J.-T.; Yang, G.-M. *Sens. Actuators, B* **2014**, 204, 655
- [15] Xu, L.; Xu, Y.-F.; Zhu, W.-P.; Yang, C.-M.; Han, L.; Qian, X.-H. *Dalton Trans.* **2012**, 41, 7212
- [16] Sun, Y.; Liang, X.-H.; Fan, J.; Han, Q. *J. Lumin.* **2013**, 141, 93
- [17] Sun, Y.; Liu, Z.; Liang, X.-H.; Fan, J.; Han, Q. *Spectrochim. Acta, A* **2013**, 108, 8.
- [18] Li, Y.-H.; Wu, Y.-Q.; Chang, J.; Chen, M.; Liu, R.; Li, Y.-F. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 11335.
- [19] Sanjoy, M.; Pakkirisamy, T. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 7292.
- [20] Zhang, G.-F.; Matthew, P. A.; Gong, W.-L.; Li, C.; Zhu, M.-Q. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 7711.
- [21] Luo, X.-Y.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, 33, 2423 (in Chinese).
(罗晓燕, 钱鹰, 有机化学, **2013**, 33, 2423.)
- [22] Qian, Y.; Meng, K.; Lu, C.-G.; Lin, B.-P.; Huang, W.; Cui, Y.-P. *Dyes Pigm.* **2009**, 80, 174
- [23] Qian, Y.; Lv, X.-M.; Zhou, Z.-Q.; Cui, Y.-P. *Chem. J. Chin. Univ.* **2011**, 32, 2441 (in Chinese).
(钱鹰, 闫新明, 周志强, 崔一平, 高等学校化学学报, **2011**, 32, 2441.)
- [24] Lv, X.-M.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 82 (in Chinese).
(闫新明, 钱鹰, 有机化学, **2011**, 31, 82.)
- [25] Wang, B.-B.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, 34, 210 (in Chinese).
(王彬彬, 钱鹰, 有机化学, **2014**, 34, 210.)
- [26] Guan, C.-F.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, 34, 537 (in Chinese).
(管成飞, 钱鹰, 有机化学, **2014**, 34, 537.)
- [27] Yang, H.; Qi, Q.; Wang, B.-B.; Qian, Y. *Chem. J. Chin. Univ.* **2013**, 34, 1880 (in Chinese).
(杨铎, 齐齐, 王彬彬, 钱鹰, 高等学校化学学报, **2013**, 34, 1880.)
- [28] Wang, B.-B.; Qian, Y. *New J. Chem.* **2013**, 37, 1402.
- [29] Meka, N.; Temesgen, T.; Siraj, K. *J. Biol. Chem. Res.* **2014**, 31, 138.
- [30] Peng, X.-J.; Du, J.-J.; Fan, J.-L.; Wang, J.-Y.; Wu, U.-K.; Zhao, J.-Z.; Sun, S.-G.; Xu, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 1500.
- [31] Zhu, X.-Q.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, 29, 1975 (in Chinese).
(朱晓勤, 钱鹰, 有机化学, **2009**, 29, 1975.)
- [32] Meng, K.; Qian, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, 29, 71 (in Chinese).
(孟康, 钱鹰, 有机化学, **2009**, 29, 71.)
- [33] Mark, D.M.; Ivo, G.; Paula, B. *Dyes Pigm.* **2009**, 81, 180.

(Lu, Y.)