

3-Pyrrolyl BODIPY 的绿色生物合成、光物理性质及应用研究

马翠云^{†,a} 罗海澜^{†,*,a} 张福华^{†,a} 郭丹^a 陈树兴^b 王飞^{*,a}^(a) 漯河医学高等专科学校 河南省营养与健康工程研究中心 河南漯河 462002)^(b) 中原食品实验室 河南漯河 462333)

摘要 3-吡咯基氟硼二吡咯(3-Pyrrolyl BODIPYs)荧光染料的绿色合成与应用是值得进一步研究的重要问题。到目前为止,在所有的合成方法中,都无法避免使用有毒的吡咯类有机化合物作为反应底物。本研究使用一种微生物源天然色素,沙雷氏菌 y2 的次级代谢产物灵菌红素,来合成目标化合物。利用灵菌红素天然的吡咯基甲川基结构,合成了一种新的 3-pyrrolyl BODIPY。光物理性质实验表明其具有荧光成像的性能,然后使用 SW480 细胞进行细胞染色探索。激光共聚焦显微镜荧光成像结果显示其可在三通道中发射出不同强度的荧光,Z-stack 结果揭示其红色通道与绿色通道中细胞穿透性可以达到 266 μm 。细胞毒性实验也说明 3-pyrrolyl BODIPY 具有良好的生物相容性,是一种值得开发的荧光染料。

关键词 沙雷氏菌 y2; 灵菌红素; 绿色生物合成; 3-吡咯基氟硼二吡咯; 荧光成像

Green Biosynthesis, Photophysical Properties and Application of 3-Pyrrolyl BODIPY

Ma, Cuiyun^{†,a} Luo, Hailan^{†,*,a} Zhang, Fuhua^{†,a} Guo, Dan^a
Chen, Shuxing^b Wang, Fei^{*,a}^(a) Henan Engineering Research Center of Nutrition & Health, Luohe Medical College, Luohe, Henan 462002)^(b) Food Laboratory of Zhongyuan, Luohe, Henan 462333)

Abstract The green synthesis and application of fluorescent dyes 3-pyrrolyl BODIPYs (dipyrromethene boron difluorides) are important issues worthy of further research. Up till now, toxic pyrrole organic compounds cannot be avoided as substrates in all synthetic methods. In this study, the target compound was synthesized by using prodigiosin—the secondary metabolites of *Serratia marcescens* y2, a natural pigment of microbial origin. A new 3-pyrrolyl BODIPY was synthesized from the natural pyrrole dimethyl subunit structure of prodigiosin. After the experiment of photophysical properties showed that it has the performance of fluorescence imaging, SW480 cells was used for fluorescent staining test. The fluorescence imaging results of Confocal laser microscopy indicated 3-pyrrolyl BODIPY can fluoresce in the three channels. The Z-stack results revealed that the cell penetration of 3-pyrrolyl BODIPY could reach 226 μm in blue and red channels. The results of SW480 live cytotoxicity test also illustrated that 3-pyrrolyl BODIPY has good biocompatibility and is worth developing as a fluorescent dye.

Keywords *Serratia Marcescens* y2; prodigiosin; green biosynthesis; 3-pyrrolyl BODIPY; fluorescence imaging

氟硼二吡咯化合物(BODIPY)是由二吡咯甲川基类化合物(通常为中间体)与三氟化硼(BF_3)络合而成^[1]。在该化学物的结构中,两个吡咯的芳香氮(N)原子分别和硼(B)原子通过共价键和配位键生成一个稳定的六元环,再与两边原有的两个五元吡咯杂环,组成一个特殊的刚

性共平面的大共轭结构^[2](图 1, pyrrolyl BODIPY 核心的结构)。该特殊结构使 BODIPYs 类化合物具有显著的光物理特性^[3],被广泛应用于生物^[4]、医学^[5]、食品^[6]和环境^[7]等领域。

自 20 世纪 80 年代以来,为扩大 BODIPYs 的应用

* Corresponding authors. E-mail: xiaohailuo1224@163.com; whovering@lhmc.edu.cn

Received April 20, 2023; revised July 11, 2023; published online September 15, 2023.

Project supported by the 2020 Central Government and Guiding Local Science and Technology Development, the Science and Technology Project of Henan Province (No. 232102310335), and the Project of Luohe Medical College (Nos. 2015-S-LMC013, 2020-LYZKYZD007, 2021LYZKJXM017, 2022KJZD11, 2019-LYZTD003).

2020 年中央引导地方科技发展专项、河南省科技攻关(No. 232102310335)、漯河医学高等专科学校科技(Nos. 2015-S-LMC013、2020-LYZKYZD007、2021LYZKJXM017、2022KJZD11、2019-LYZTD003)资助项目。

[†] 共同第一作者(The authors contributed equally to this work).

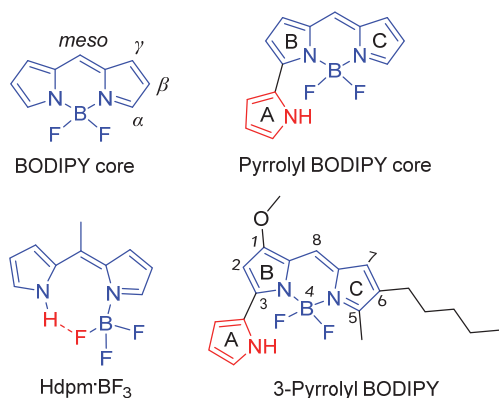


图1 BODIPY 核心、pyrrolyl BODIPY 核心、二吡咯甲川与 BF₃ 的反应中间体和目标化合物 3-pyrrolyl BODIPYs 的结构
Figure 1 Chemical structures of BODIPY core, pyrrolyl BODIPY core, the intermediate in the reaction between dipyrromethane and BF₃, and target compound 3-pyrrolyl BODIPYs

范围, 对其化学结构进行的修饰一直是研究热点. 在其母核 α 位引入吡咯, 合成的 3-pyrrolyl BODIPYs^[8] 具有更长的吸收与发射波长、更高的荧光量子产率以及更好的生物相容性. 由美国 Invitrogen 生命技术公司开发的母核为 pyrrolyl BODIPY 的 BODIPY 576/589^[9], 因其优异的光物理性质和生物相容性而被用作生物探针, 但是这类化合物因合成量少, 在市场上稀缺且价格昂贵. 因此, 关于 3-pyrrolyl BODIPYs 的合成方法依然是科研工作者所要攻克的难点.

3-Pyrrolyl BODIPYs 现有的合成方法主要是先合成 α 位无取代的 BODIPY, 再与吡咯进行反应^[4,10]. 随着绿色化学概念的提出, 科研工作者们在方法上进行优化, 如一锅法^[11]等, 虽然在一定程度上减少了有机溶剂的使用, 但是仍无法避免使用有毒吡咯类化合物作为底物. 如果能找到一种带二吡咯甲川基结构的天然化合物代替有毒的吡咯类化合物, 用于 3-pyrrolyl BODIPYs 的合成, 可为 3-pyrrolyl BODIPYs 的绿色合成开辟新的方向.

灵菌红素(prodiginines, PGs)^[12] 主要由隶属于肠杆菌科的杆状革兰氏阴性菌——粘质沙雷氏菌的次级代

谢产物. 因其具有抗真菌^[13]、抗疟疾^[14]、抗癌^[15]、抑制微生物生长^[16]等生物活性而广泛应用于生物、医学、食品工业等领域^[17]. 对于灵菌红素, 研究者们更多关注其生物学功能, 忽略了 PGs 的化学结构——一类具有天然吡咯基二吡咯甲川基的化合物^[18]. 在有机合成中, 灵菌红素可以用来替代与其结构相似的有毒的化合物, 成为一种应用前景广阔的合成前驱体^[9a]. 从结构分析看, 灵菌红素的主体骨架与 3-pyrrolyl BODIPYs 类化合物只有一个 BF₂ 基团的差别. 因此, 本研究将从沙雷氏菌 y2 出发 (Scheme 1), 提取其次级代谢产物灵菌红素, 与三氟化硼进行络合反应, 制备了一种新的 3-pyrrolyl BODIPY, 测定其光物理性质, 并将其用于 SW480 细胞荧光成像.

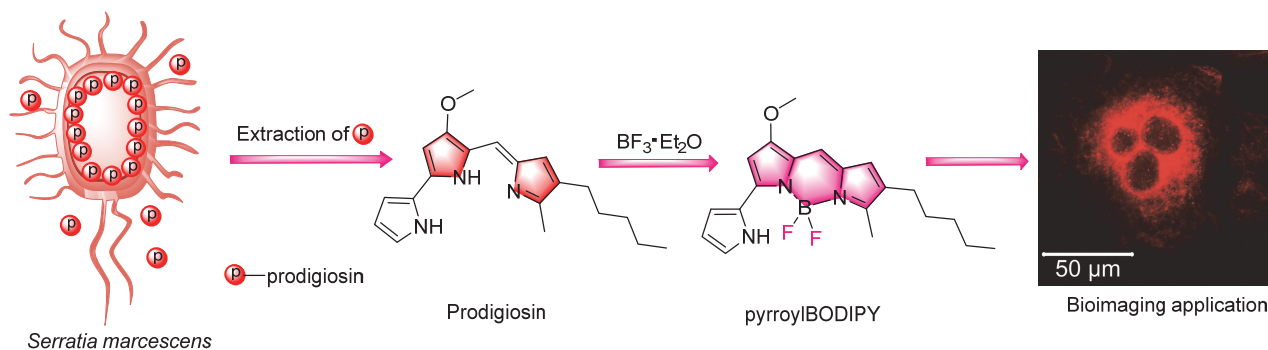
1 结果与讨论

1.1 灵菌红素的生物合成

PGs 作为不同菌属微生物的次级代谢产物^[19], 可根据取代基的不同将其分为环灵菌红素 (Cycloprodiginosin)、灵菌红素 (Prodiginosin, PG)、间环灵菌红素 (Metacycloprodiginosin) 等. 因此, 如以灵菌红素为反应底物, 将其从宿主细胞中提取出来后, 要先对其进行结构鉴定.

PGs 为脂溶性胞内色素, 一般使用有机溶剂加超声辅助进行破壁提取, 常用提取溶剂^[20]为甲醇、乙醇、乙腈、丙酮与氯仿等. Liu 等^[21]发现在常用提取溶剂中, 使用与水互溶性最小的氯仿, 在与水体积比 1:1 的条件下, 提取 PG 时可以除去宿主细胞内其他水溶性杂质.

因此, 在本实验过程中, 先使用甲醇超声辅助, 使 PG 从最大限度菌体融出, 再加入氯仿与水除去杂质. 如图 2A 所示, 沙雷氏菌 y2 中加入 2 mL 甲醇超声辅助提取 10 min, 随后加入等体积的氯仿 (CHCl₃/甲醇, $V:V=1:1$), 此时溶液中并无明显变化 (离心管 I). 但是当加入适量的水 (水/CHCl₃, $V:V=1:2$) 时, 溶液出现分层 (离心管 II), 产生这种现象的原因是甲醇与水的互溶



图式1 3-Pyrrolyl BODIPY 的绿色合成与应用
Scheme 1 Green synthesis and applications of 3-pyrrolyl BODIPY

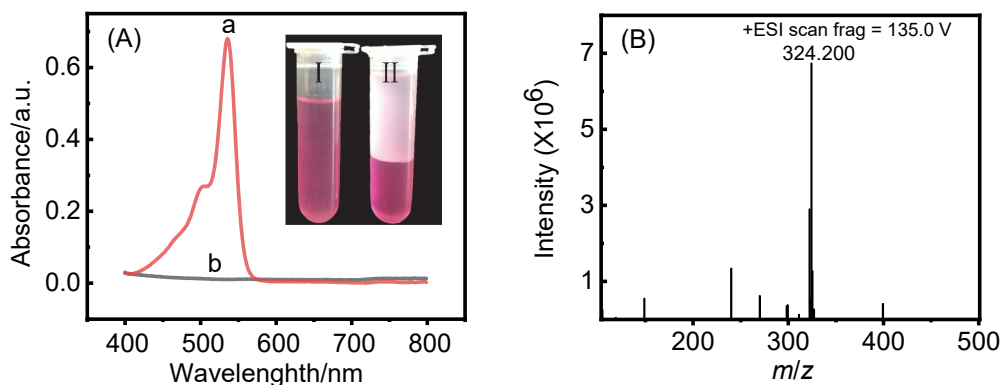


图2 试管 I 中 PG(曲线 a)与试管 II 上层溶液(曲线 b)的最大吸收峰(A)和 *Serratia marcescens* y2 次级代谢产物的质谱图(B)
 Figure 2 Absorption spectra of PG from tube I (curve a) and the upper layer of tube II (curve b) (A), and MS analysis of the extracted product from the host cells of *Serratia marcescens* y2 (B)

性大于甲醇与氯仿的互溶性。从图中可以看出,上层的甲醇水层出现了大量的白色不溶物,而溶解了 PG 的氯仿层,相比离心管 I 的下层溶液,更清澈透明。这证明了氯仿与水的存在的确去除了溶液中大量的杂质。

接下来,对离心管 II 中的上层与下层溶液分别进行光谱扫描,结果显示下层溶液在 535 nm 处有一个明显吸收峰(图 2A, 曲线 a),依据文献,可以初步判定下层溶液中的灵菌红素为五烷基灵菌红素^[20a]。上层在 535 nm 处无明显吸收峰(图 2A, 曲线 b),说明上层溶液中不含色素。此种方法可以最大限度地从菌体中提取灵菌红素。

最后,使用高效液相色谱质谱联用仪对提取物的化学结构进一步的验证,结果如图 2B 所示。全扫描模式下,化合物的分子离子峰为 m/z 324,与文献报道的五烷基灵菌红素一致^[20b],可以确定从沙雷氏菌 y2 中提取到的灵菌红素为五烷基灵菌红素。因 PG 具有吡咯基吡咯二甲亚基结构,可以直接用来尝试与三氟化硼反应,验证其是否能作为合成 3-pyrrolyl BODIPYs 的前驱体,为其绿色合成打开一个新的篇章。

1.2 3-pyrrolyl BODIPY 的合成

在化学位移 δ -139.9 至 -139.7 的核磁共振氟谱中可以确定 BF_3 已经和 PG 络合成功,参考以往文献,此时不能确定生成的化合物为 3-pyrrolyl BODIPY。众所周知, Lewis 酸 BF_3 与二吡咯甲川基的反应机理^[22]是,硼原子上的空轨道和芳香氮原子上的孤对电子组成一个稳定的配合键,整个分子生成一个 HBF_3 中间体(图 1, $\text{Hdpm} \cdot \text{BF}_3$),其中一个氟离子和另外一个芳香环上的 H 原子因距离较近形成稳定的 HF 分子。待 HF 分子离去后,硼原子会以共价键的方式和芳香环的 N 原子结合,合成得到 BODIPY。

如果与 BF_3 反应的对象变成吡咯基二吡咯基甲川基,当中间体形成后,硼原子与 A 环和 C 环上芳香氮原

子形成的闭合环的概率是等同的。也就是说,产物可能是也具有荧光特性的五元氟硼配合物^[23],且在一维氢谱中与 3-pyrrolyl BODIPY 差别显著。为确定合成化合物的具体结构,使用可以反应氢原子空间距离的二维 NOESY (nuclear overhauser effect spectroscopy)谱图来进行验证。如图 3 所示,可以清楚地看到仲胺氮原子上的氢原子,与芳杂环上的相邻 H 原子有一个较强的相关峰,如果形成的是五元氟硼配合物,无 α -H 的吡咯 C 环则不会出现此峰。证明本研究合成的化合物为 3-pyrrolyl BODIPY (1-甲氧基-3-吡咯基-5-甲基-6-五烷基-二氟化硼-二吡咯甲烷)。

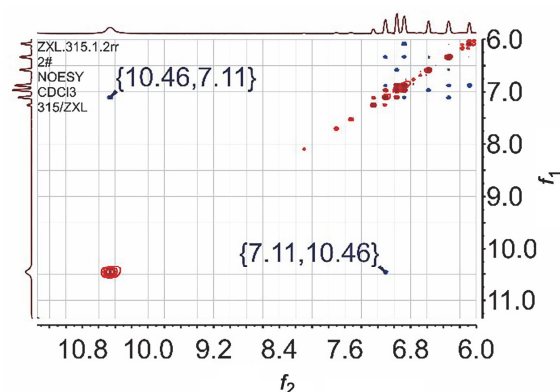


图3 3-Pyrrolyl BODIPYs 的 NOESY 谱的局部放大图
 Figure 3 Partial enlarged NOESY spectrum of 3-pyrrolyl BODIPYs

对氟硼化反应的温度、溶剂、反应时间等条件进行了筛选,最后得到最佳反应条件为:在溶剂 CH_2Cl_2 中, PG (1 mmol)、三乙胺(10 mmol)和 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (10 mmol) 在 30 °C 下反应 4 h。

1.3 3-Pyrrolyl BODIPY 的光物理性质及细胞应用研究

由于吸收波长大于 500 nm 的荧光染料^[24]能量较低,可以减少来自蛋白质与细胞固有荧光团的背景辐射,且

在生物环境中危害更小, 因此检测新合成的 3-pyrrolyl BODIPY 的吸收波长显得尤为重要. 分别测试了其在石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、异丙醇、丙酮、乙醇、乙腈和甲醇中的光谱吸收性质. 如图 4 所示, 随着极性的增大, 3-pyrrolyl BODIPY 的最大吸收波长并无明显变化, 溶剂造成的蓝移也仅为 5 nm. 但所幸的是, 所有溶剂中的最大吸收波长均在 559 nm 及以上(图 4B). 荧光光谱的结果表明, 最长的荧光发射波长为其在二氯甲烷中的 579 nm, 最短的荧光发射波长为其在石油醚中的 573 nm.

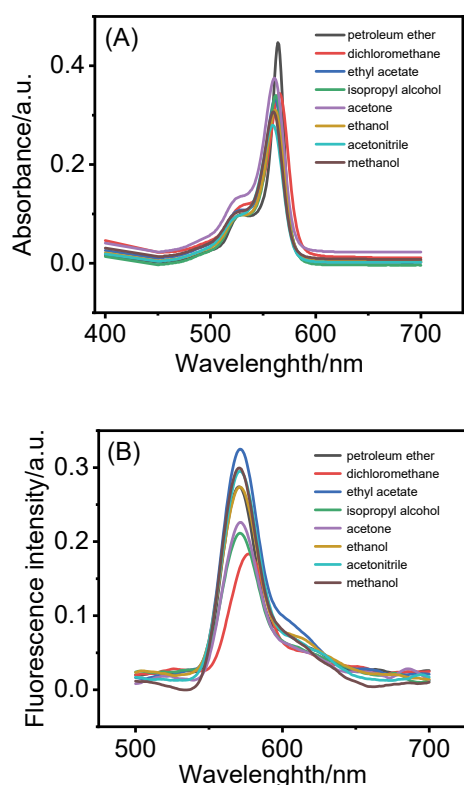


图 4 3-Pyrrolyl BODIPYs 的紫外-可见光谱图(A)和 3-pyrrolyl BODIPYs 的荧光发射光谱(激发波长为 550 nm) (B)

Figure 4 Absorption spectra of 3-pyrrolyl BODIPY (A) and fluorescence spectra of 3-pyrrolyl BODIPY ($\lambda_{\text{ex}} = 550 \text{ nm}$) (B)

荧光强度由摩尔吸光系数和荧光量子产率决定^[24], 荧光染料的荧光强度对 BODIPYs 类化合物在生物成像中的应用非常重要. 本研究中 3-pyrrolyl BODIPY 的摩尔吸光系数在石油醚中是最高的, 可以达到 $101590 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 在乙腈中是最低的, 但也达到了 $63409 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. 3-pyrrolyl BODIPY 在乙酸乙酯中的荧光量子产率最高为 0.37, 在二氯甲烷中的荧光量子产率最低为 0.21.

在光稳定实验中, 乙酸乙酯中的 3-pyrrolyl BODIPY 溶液的吸光强度衰减最大, 紫外灯照射 15 min 后, 吸光强度降低至 93%, 60 min 后降低至 80%以上. 二氯

甲烷、丙酮、乙醇、乙腈中 3-pyrrolyl BODIPY 溶液的吸光强度分别是原吸光强度的 91%、97%、92%和 99%, 均在 90%以上. 其中石油醚、异丙醇和甲醇中的 3-pyrrolyl BODIPY 溶液没有随时间的变化而变化. 考虑到甲醇为常规溶剂, 因此使用 3-pyrrolyl BODIPY 的甲醇溶液测其荧光强度随时间的变化. 激发波长为 550 nm, 500 s 后荧光强度损失仅为 5%.

综上所述, 优异的光物理性质为 3-pyrrolyl BODIPY 应用于荧光成像提供了理论基础. 在进行细胞染色应用前进行了 3-pyrrolyl BODIPY 细胞毒性实验. 如图 5 所示, 不同浓度的 3-pyrrolyl BODIPY 处理细胞 48 和 72 h 后, 其细胞存活率与对照组之间无统计学差异, 这表明所合成的 3-pyrrolyl BODIPY 染料无细胞毒性, 为其在细胞成像中的实际应用奠定了基础.

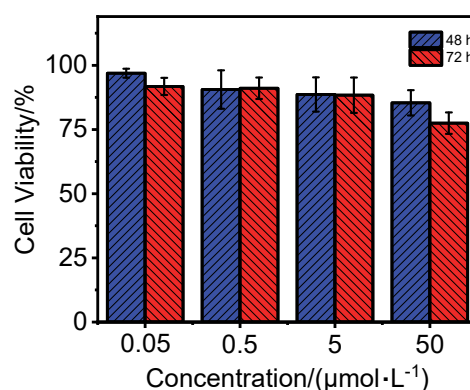


图 5 3-Pyrrolyl BODIPY 对 SW480 细胞存活率的影响

Figure 5 Effects of 3-pyrrolyl BODIPY on the cell viability of SW480 cells

为探究其在荧光成像中的实际成像情况, 以 SW480 细胞为研究对象对其荧光成像进行分析. 如图 6 所示, 3-pyrrolyl BODIPY 与细胞常温孵育 15 min 后, 细胞在蓝、红、绿三通道都能进行荧光成像, 三通道染色位置相同.

为了进一步探索 3-pyrrolyl BODIPY 染色的特性, 使用核酸染料 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)与 3-pyrrolyl BODIPY 对 SW480 进行双染. 对比图 7A、7B、7C 可以看到, 图 7A 中细胞核(白色箭头)有蓝色荧光、细胞胞质中也有荧光. 图 7B、7C 中细胞核(白色箭头)的位置没有荧光, 说明 3-pyrrolyl BODIPY 能与细胞质结合, 不能与细胞核结合. 最后, 使用 Z-stack 测试了 3-pyrrolyl BODIPY 可以在细胞中达到的荧光深度. 如图 8 所示, 图像代表随着细胞深度增加, 每个层面所呈现出的相同位置的荧光强度, 层面间隔距离为 $14 \mu\text{m}$. 在蓝色通道中, 与市售的 DAPI 染料可以在 $0 \sim 266 \mu\text{m}$ 显示出荧光相比, 3-pyrrolyl BODIPY 在 $14 \sim 252 \mu\text{m}$ 深度内有荧光.

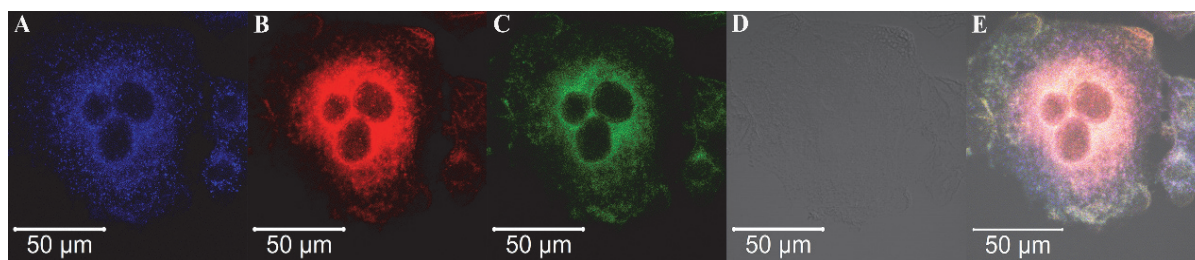


图 6 3-Pyrrolyl BODIPY 在 SW480 细胞中的共聚焦荧光图像

Figure 6 Confocal fluorescence images of 3-pyrrolyl BODIPY in SW480 cells

$\lambda_{\text{ex}}=405 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=410\sim513 \text{ nm}$ (A); $\lambda_{\text{ex}}=555 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=566\sim697 \text{ nm}$ (B); $\lambda_{\text{ex}}=488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=493\sim556 \text{ nm}$ (C); white field (D); merge (E)

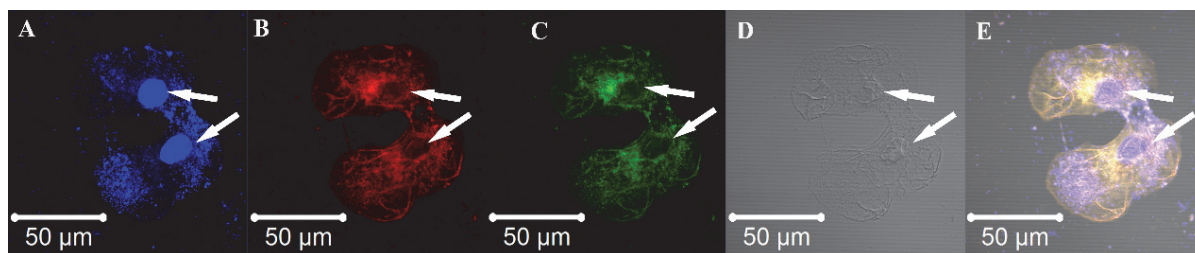


图 7 3-Pyrrolyl BODIPY 与 DAPI 在 SW480 细胞中双染的共聚焦荧光图像

Figure 7 Confocal fluorescence images of 3-pyrrolyl BODIPY and DAPI in SW480 cells

$\lambda_{\text{ex}}=405 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=410\sim513 \text{ nm}$ (A); $\lambda_{\text{ex}}=555 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=566\sim697 \text{ nm}$ (B); $\lambda_{\text{ex}}=488 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=493\sim556 \text{ nm}$ (C); white field (D); merge (E)

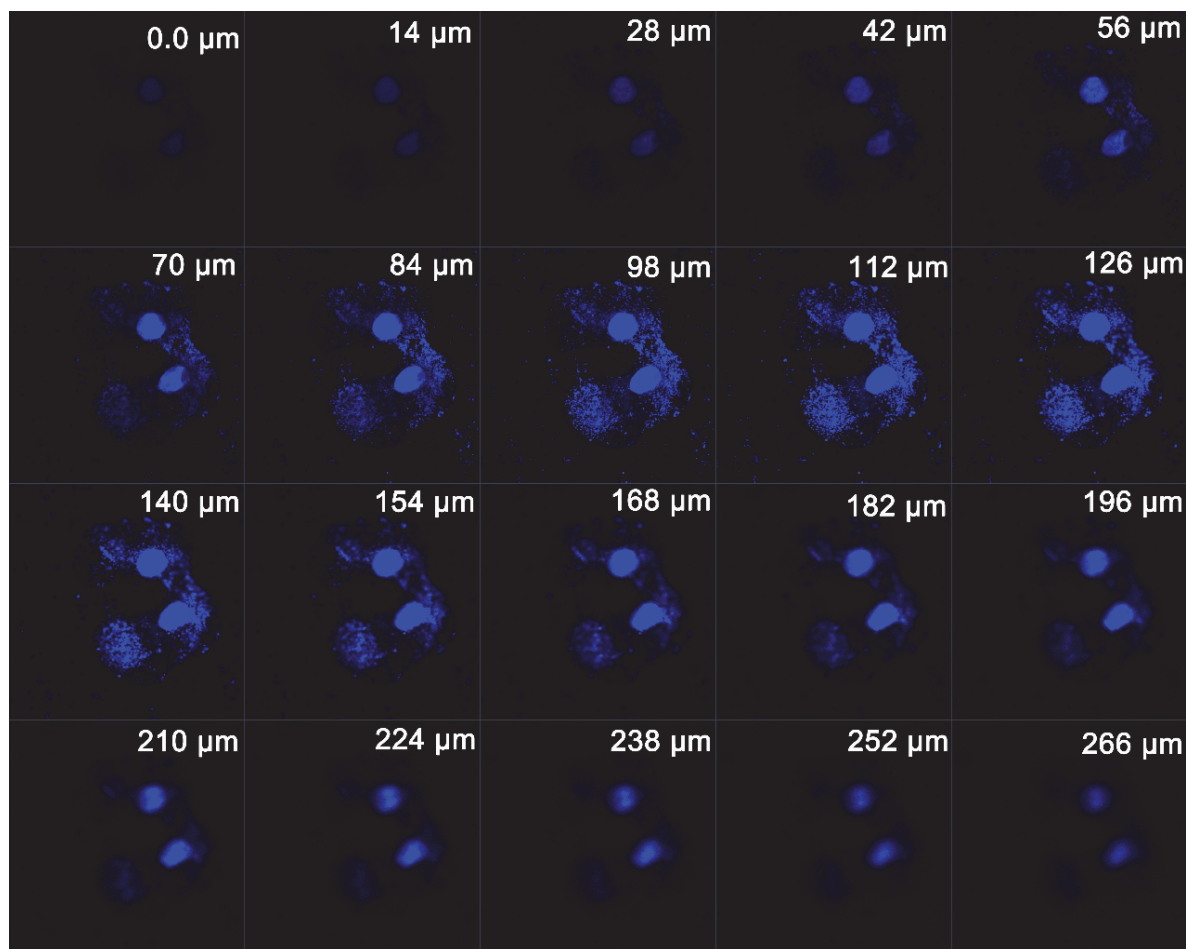


图 8 蓝色通道下 3-pyrrolyl BODIPY 在 SW480 细胞中 Z-stacks CLSM(激光扫描共聚焦显微镜)图像

Figure 8 CLSM (Confocal laser scanning microscope) images of Z-stacks of 3-pyrrolyl BODIPYs in SW480 in blue channel

而绿色通道与红色通道的 Z-stack 实验结果显示, 可以在 0~266 μm 中显示出荧光. 以上结果说明 3-pyrrolyl BODIPY 可以作为细胞荧光成像染料进行生物成像.

2 结论

使用沙雷氏菌 y2 的次级代谢产物 PG 作为反应底物, 合成了 3-pyrrolyl BODIPY 荧光染料. 通过核磁共振氢谱、碳谱、氟谱, 红外吸收光谱法(IR), 质谱和 NOESY 谱对其结构进行了表征. 不同溶剂中的最大吸收波长均在 559 nm 以上, 摩尔吸光系数最高可以达到 101590.91 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, 量子产率最高为 0.37. SW480 细胞荧光成像实验结果表明, 3-pyrrolyl BODIPY 可以在三通道中进行荧光成像, 且红色通道与绿色通道染色深度可以达到 266 μm , 是一种具有应用潜能的荧光染料.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

^{19}F NMR, ^1H NMR, NOESY 和 ^{13}C NMR 在 Bruker AVANCE III 核磁共振仪上测试; 红外光谱在 BRUKER TENSOR 27 傅里叶红外光谱仪上测试; 质谱在 Agilent 1260 Infinity II Prime Ultivo HPLC-MS 上测试; 高分辨质谱在 Agilent 6546 Q-TOF 液质联用仪上测试; 紫外-可见光谱在 Varian Cary 100 紫外可见分光光度计上测试; 荧光光谱在上海棱光 F96PRO 光谱仪上测试, 石英比色皿为 1 $\text{cm}\times 1\text{ cm}$; 细胞成像实验所用激光共聚焦显微镜为德国 Zeiss CLSM LSM700; 熔点在上海索光数字熔点仪 WRS-1B 上测量; 折射率在索光 WYA-2S 数字阿贝折射仪测量; 细胞毒理实验按照 CCK-8 (Cell counting kit) 试剂盒说明书在 Thermo Scientific Multiskan FC 酶标仪上测量.

本实验使用的溶剂和试剂除非另有说明, 都为直接使用, 且均在试剂公司购买.

3.2 实验方法

3.2.1 灵菌红素的提取

基于本实验室研究基础^[25], 将粘质沙雷菌 y2 在固体培养基(18 g/L 牛肉膏、20 g/L 蔗糖、1.1 g/L CaCl_2 、20 g/L 琼脂)中 28 $^\circ\text{C}$ 培养 24 h, 转入含 100 mL 液体培养基(18 g/L 牛肉膏、20 g/L 蔗糖、1.1 g/L CaCl_2)中的 250 mL 三角烧瓶中, 以 200 r/min 的转速在 28 $^\circ\text{C}$ 培养 48 h. 培养结束后, 4500 r/min 离心 10 min, 去上清液, 收集沉淀. 用适量的 CH_3OH 超声破壁提取 10 min, 再加入 CHCl_3 和 H_2O 提取, 重复数次, 直到沉淀接近白色. 减压浓缩, 紫外可见分光光度计初步测定色素的最大吸收波长(λ_{max}), LC-MS (ESI)测定其分子量.

3.2.2 3-Pyrrolyl BODIPY (1-甲氧基-3-吡咯基-5-甲基-6-五烷基-二氟化硼-二吡咯甲烷)的合成

PG (1 mmol)溶于 100 mL 重蒸 CH_2Cl_2 中, 加入三乙胺(10 mmol), 并在室温下搅拌 10 min. 然后, 于 0 $^\circ\text{C}$ 下滴加入 $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (10 mmol), 5 min 后将温度升至 30 $^\circ\text{C}$ 后继续搅拌反应 4 h. 加水淬灭, 萃取并合并有机相, 无水 MgSO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩. 柱层析(CH_2Cl_2 /石油醚, $V:V=1:10$)对粗化合物进行纯化, 制备得到 3-Pyrrolyl BODIPY 0.22 g, 产率 71%. 金黄色固体, m.p. 155.1~156.2 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 10.46 (s, 1H), 7.11~7.10 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.88~6.87 (m, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.35~6.33 (s, 1H), 6.08 (s, 1H), 6.08 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.41~3.67 (t, $J=7.52$, 7.80 Hz, 2H), 1.56~1.51 (m, 2H), 1.35~1.31 (m, 4H), 0.92~0.88 (m, 3H); ^{13}C NMR (100MHz, CDCl_3) δ : 163.36, 149.11, 148.66, 130.89, 130.66, 127.45, 124.75, 123.85, 123.85, 116.95, 116.52, 110.99, 96.51, 58.37, 31.63, 29.93, 25.77, 22.56, 14.08, 12.35; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ : -139.89; IR (KBr) ν : 3419.0, 2921.0, 1601.0, 1464.2, 1263.1, 1160.1, 1160.1, 996.8 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 372.2059, found 372.2061.

3.2.3 光物理性质测定

称取 0.0081 g 的 3-pyrrolyl BODIPY, 用 CH_2Cl_2 溶解, 并定容至 100 mL, 配成 2×10^{-4} mol/L 的母液. 然后移取 200 μL 的母液于 10 mL 的容量瓶中, 待二氯甲烷几乎完全挥发后, 加入不同溶剂, 配成浓度为 4×10^{-6} mol/L 测试样, 测定其紫外吸收光谱, 并根据下列公式计算摩尔吸光系数(Eq. 1).

$$A=\epsilon bc \quad (1)$$

A 是吸光度, ϵ 是摩尔消光系数, b 是石英比色皿的厚度 (规格为 1 $\text{cm}\times 1\text{ cm}$), c 是化合物的浓度.

在光稳定性实验中, 使用不同的溶剂, 分别配制浓度为 4×10^{-6} mol/L 的溶液, 使用波长为 365 nm 的紫外灯连续照射 15、30、60、120 min. 在不同的溶剂最大吸收波长下, 测其吸光强度的变化.

为准确测定溶液的荧光光谱, 减少溶液的自吸作用, 使进行荧光检测溶液的紫外吸收光谱强度控制在 0.02~0.08^[26]. 因此, 配成浓度为 10^{-6} mol/L 的溶液进行检测, 并计算出其 stokes 位移. 本文中样品荧光量子产率的测定以罗丹明 B 的无水乙醇溶液($\Phi_{\text{F}}=0.49$)为标准样, 采用下列公式进行测定(Eq. 2):

$$\Phi_{\text{F}}=\Phi_{\text{FStd}}\frac{I\cdot A_{\text{Std}}\cdot n^2}{I_{\text{Std}}\cdot A\cdot n_{\text{Std}}^2} \quad (2)$$

Φ_{F} 和 Φ_{FStd} 分别为待测样品和标准样品的荧光量子产率;

A 和 A_{Std} 分别为待测样品和标准样品的在激发波长下的吸光度; I 和 I_{Std} 分别为待测样品和标准样品的荧光强度; n_{Std} 和 n_{Std} 分别为待测样品和标准样品溶剂的折射率; Φ_{Std} 值独立测量三次, 然后取平均值。

3.2.4 细胞实验

细胞培养: 在杜氏改良 Eagle 培养液(DMEM)中加入 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素, 将人结肠癌细胞(SW480)以适当的密度接种在细胞培养皿中, 置于温度为 37 °C, 含 5%的 CO₂ 细胞培养箱中培养。

细胞毒性实验: 将消化好的 SW480 细胞以每孔 2.4×10^4 个/mL 接种在 96 孔培养板中, 每组 6 个平行样, 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h。向培养板加入 10 μ L 不同浓度的 3-pyrrolyl BODIPY, 使终浓度分别为 0.05、0.5、5、50 μ mol/L, 以不加 3-pyrrolyl BODIPY 为对照孔, 只加培养基作为空白对照。继续培养 48、72 h 后向每孔各加入 10 μ L CCK 溶液, 37 °C 孵育 4 h, 用酶联免疫检测标仪在 450 nm 处测定吸光值。细胞存活率按细胞存活率公式计算(Eq. 3)。

$$\text{Cell viability} = (A_s - A_b) / (A_c - A_b) \times 100\% \quad (3)$$

A_s 是样品的吸光度; A_c 是对照组的吸光度; A_b 是空白组的吸光度。

荧光成像: 将消化好的 SW480 细胞调整至 1×10^5 个/mL, 接种至 6 孔培养板内(内置细胞爬片), 每孔加入 500 μ L 细胞悬液后, 再加入 1 mL 高糖培养基(DMEM)细胞培养液。将培养板置于 37 °C 的 CO₂ 培养箱中培养。48 h 后移除 6 孔培养板内培养液, 加入磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 3 次后, 再加入 500 μ L 4 °C 预冷的固定液(保证爬片上的细胞均被固定液附着), 4 °C 固定 15 min, PBS 缓冲液清洗 3 次, 加入浓度为 2 μ mol/L 3-pyrrolyl BODIPY(或浓度为 10 μ g/mL 的 DAPI) 20 μ L, 室温下染色 15 min, PBS 缓冲液清洗 1 次, 于激光共聚焦荧光显微镜下进行荧光成像。

辅助材料(Supporting Information) 3-Pyrrolyl BODIPY 氟硼化反应条件筛选表, 不同溶剂中的光谱性质表, 质谱、氢谱、碳谱、氟谱、IR 和 NOESY 谱, 光稳定性实验结果等。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Rao, Y. *Ph.D. Dissertation*, Hunan Normal University, Changsha, **2020** (in Chinese). (饶玉滔, 博士论文, 湖南师范大学, 长沙, **2020**.)
- [2] Loudet, A.; Burgess, K. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891.
- [3] (a) Lv, X.; Wu, Y.; Zhang, B.; Guo, W. *Acta Chim. Sin.* **2023**, *81*, 359 (in Chinese).
- (b) Liu, Z.; Dai, X.; Xu, Q.; Sun, X.; Liu, Y. **2021**, *40*, 493.
- (c) Liu, B.; Wang, C.; Qian, Y. *Acta Chim. Sinica* **2022**, *80*, 1071 (in Chinese).
- (d) Liu, B.; Wang, C.; Qian, Y. *Acta Chim. Sinica* **2022**, *80*, 1071.
- (e) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (f) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (g) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (h) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (i) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (j) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (k) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (l) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (m) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (n) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (o) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (p) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (q) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (r) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (s) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (t) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (u) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (v) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (w) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (x) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (y) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (z) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (aa) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ab) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ac) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ad) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ae) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (af) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ag) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ah) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ai) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (aj) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ak) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (al) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (am) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (an) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ao) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ap) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (aq) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ar) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (as) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (at) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (au) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (av) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (aw) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ax) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ay) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (az) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ba) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bb) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bc) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bd) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (be) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bf) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bg) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bh) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bi) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bj) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bk) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bl) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bm) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bn) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bo) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bp) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bq) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (br) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bs) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bt) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bu) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bv) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bw) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bx) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (by) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (bz) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ca) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cb) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cc) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cd) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ce) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cf) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cg) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ch) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ci) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cj) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ck) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cl) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cm) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cn) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (co) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cp) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cq) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cr) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cs) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ct) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cu) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cv) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cw) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cx) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cy) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (cz) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (da) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (db) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dc) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dd) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (de) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (df) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dg) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dh) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (di) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dj) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dk) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dl) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dm) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dn) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (do) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dp) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dq) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dr) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ds) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dt) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (du) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dv) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dw) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dx) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dy) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (dz) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ea) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (eb) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ec) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ed) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ee) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ef) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (eg) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (eh) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ei) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ej) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ek) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (el) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (em) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (en) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (eo) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (ep) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (eq) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (er) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (es) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (et) Liu, B.-K.; Teng, K.-X.; Niu, L.-Y.; Yang, Q.-Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1265 (in Chinese).
- (eu) Liu, B.-K.; Teng

- [23] (a) Wang, W.; Tong, S.; Wang, Q. Q.; Ao, Y. F.; Wang, D. X.; Zhu, J. *Chemistry* **2022**, *28*, e202202507.
(b) Lebedev, Y.; Apte, C.; Cheng, S.; Lavigne, C.; Lough, A.; Aspuru-Guzik, A.; Seferos, D. S.; Yudin, A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 13544.
(c) He, J.; Rauch, F.; Finze, M.; Marder, T. B. *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 128.
- [24] Colas, K.; Doloczki, S.; Posada Urrutia, M.; Dyrager, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, *2021*, 2133.
- [25] Wang, F.; Luo, H.; Song, G.; Liu, C.; Wang, J.; Xu, J.; Su, X.; Ma, X. *Electron. J. Biotechnol.* **2013**, *16*, 1.
- [26] Xia, J. *M.S. Thesis*, Huaqiao University, Quanzhou, **2014** (in Chinese).
(夏九旭, 硕士论文, 华侨大学, 泉州, **2014**.)

(Lu, Y.)