

摘 要

乙酰胆碱在生物体内起着重要生理作用, 研究在生理条件下对乙酰胆碱及其衍生物的识别有着特别重要的意义。由于杯芳烃类受体与乙酰胆碱类化合物没有荧光性能, 因此荧光竞争法是检测它们之间识别行为的一种有效方法。探索新的可用于该方法中的荧光探针以及合成生理条件下高效特异选择性能的人工受体都是当前的一个研究热点。

本论文的工作主要为两大部分, 第一部分为新型荧光探针 **2-4** 的合成及其性能的研究; 第二部分为具有水溶性的多位点识别受体的合成探索。

第一章综述了作为第三代超分子主体化合物的杯芳烃功能化修饰的研究进展, 分析了杯芳烃在水溶性、光学信号化和手性识别的三大功能化发展方向。

第二章阐述了包括新型的苊吡啶盐探针 **2-4** 在内的三种荧光探针的合成以及它们的荧光性能比较。核磁滴定法表明新型探针 **2-4** 与杯芳烃 **2-9** 形成 1:1 的包结络合物; 荧光淬灭光谱法显示新型探针 **2-4** 比其余两探针更适合在中性水溶液下进行使用; 荧光竞争光谱法表明新型探针 **2-4** 可在中性水溶液条件下进行杯芳烃对胆碱的识别检测。

第三章探索了对乙酰胆碱具有多位点识别性能的水溶性杯芳烃- β -环糊精受体的合成, 完成了所有中间体的合成与结构鉴定, 目标物的分离纯化及结构鉴定待进一步完成。

关键词: 苊, 荧光探针, 荧光竞争法, 乙酰胆碱, 分子识别, 杯芳烃, 人工受体

ABSTRACT

It is important to study the recognition for acetylcholine and its derivatives in the physiological condition, due to their biological importance. Competitive fluorescence spectroscopic method is an effective nondestructive detection for the recognition of artificial receptor calixarene with acetylcholine and its derivatives, both of the receptor and guest has no fluorescence. Recent study in this area focus on developing new efficient fluorescent probes, which might be used in neutral aqueous solution, as well as developing artificial water-soluble receptors with high selectivity.

This thesis contains two parts: one is about the synthesis and performance of a novel fluorescent probe 2-4, the other is about the synthesis of one water-soluble artificial receptor with multiple-site recognition ability for acetylcholine.

The progress of functionalized calixarene is reviewed in chapter one. The calixarene have been mainly functionalized to improve its water-solubility, or act as optical signal, or possess chiral recognition.

In chapter two, the synthesis of three fluorescent probes (including the novel stilbene-appended pyridinium ion 2-4) was illustrated and the comparison of their fluorescent properties was discussed. The ^1H -NMR titration spectra suggested that compound 2-4 forms a complex with resorcin[4]arene 2-9 in ratio of 1:1. The fluorescence quenched spectra showed that probe 2-4 is better than the other two probes when used in neutral aqueous condition. The competitive fluorescence spectra revealed that compound 2-4 could be used as a probe in the detection of calixarene toward choline cations in neutral aqueous condition.

In chapter three, it is discussed that the synthesis of a water-soluble β -cyclodextrin-resorcin[4]arene, which has multiple-site recognition ability toward acetylcholine. All the intermediates had been synthesized and characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR and MS spectra. However the separation, purification and structural determination of the final product is under further investigation.

Key words: stilbene, fluorescent probe, competitive fluorescence spectra, acetylcholine, resorcin[4]arene

第一章 杯芳烃的功能化修饰研究进展

20 世纪 70 年代末,杯芳烃这类“新型”的具有独特空穴结构的大环化合物引起了化学家的广泛关注,成为继冠醚和环糊精之后的第三代超分子主体化合物。

随着主客体化学从单点识别发展到多重识别或多点识别并向不对称性识别方向发展,杯芳烃的合成也向着功能化方向发展。杯芳烃功能化修饰的目的就是希望得到特定空穴结构或特定性能的衍生物。物理性能上主要是向着水溶性方向发展;应用功能及性能上主要向着携带光学、电学信号发生体或手性识别体等方向发展。

杯芳烃的功能化修饰主要是利用酚羟基的醚化、酯化等反应,在其酚羟基引入特性基团,或通过对杯芳烃苯环氢的取代进行溴化、磺酸化、烷基化等反应引入特性基团。

本章着重介绍近二十年来杯芳烃的水溶性、光性能以及手性识别功能化方面的进展。

1.1 杯芳烃的水溶性功能化

生物体内的季铵阳离子类化合物所处的环境为生理条件(类似中性水溶液),天然受体对这些客体分子的识别过程也是在生理条件下进行,所以,要模拟这些天然受体对乙酰胆碱等季铵阳离子进行识别研究的首要条件就是人工合成的主体化合物必须要有较好的水溶性。以杯芳烃为母体,对其进行功能化修饰得到生理条件下的季铵阳离子受体,首先必须对其进行水溶性功能化。杯芳烃朝着水溶性方向功能化的方法主要是引进具有带水溶性的功能团,如带电荷的磺酸基、羧基和磷酸基以及不带电荷的羟基。引入带电荷的功能团也使杯芳烃具备电学信号发生体,这样就可以通过调整体系的 pH 值来调整带电荷杯芳烃受体的静电作用,从而调整其识别行为。

杯芳烃磺酸化是增强其水溶性的较为常用的方法。Shinkai 研究组^[1,2]在二十

世纪八十年代率先开始了对杯芳烃磺酸化的研究,通过磺酸化分别取代杯芳烃上缘的苯环氢和下缘羟基氢,合成了系列水溶性的磺酸化杯芳烃衍生物 **1-1a~c** 和 **1-2a~c** (图 1.1), 并详细研究了其在水溶液中对中性有机分子如偶氮苯衍生物、萘等的包结配位行为^[2, 3], 以及对有机阳离子如苯叠氮盐、三甲基苯基铵、酚蓝和乙酰胆碱等季铵阳离子^[1, 4-8]的识别行为。在其基础上, 关于磺酸化水溶性杯芳烃的包结行为的应用研究^[9-11]及新型磺酸化水溶性杯芳烃^[12]的合成也有报道。

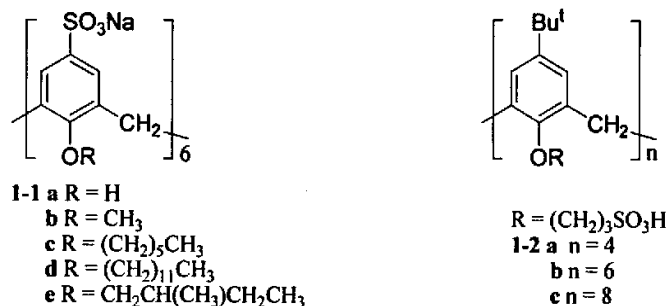


图 1.1 磺酸化杯芳烃衍生物 **1-1a~c** 和 **1-2a~c**

羧基化也是增强杯芳烃水溶性的一种方法。

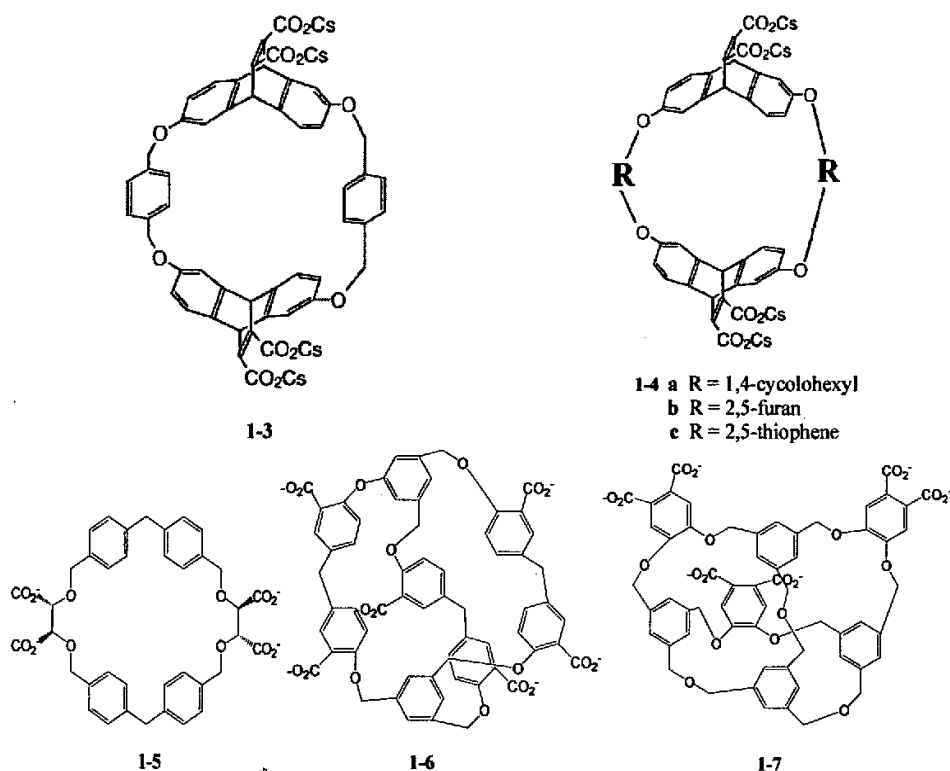


图 1.2 羧基化环番类化合物 **1-3~7**

在二十世纪八十年代,美国D. A. Dougherty^[13~20]的研究小组设计和合成了羧酸化环番类化合物**1-3**和**1-4a~c**(图1.2)。这些含羧基化合物在pH 7~9的范围内均可溶于水,而且还发现环番化合物能识别包括乙酰胆碱在内的季铵离子。Lehn等^[21~23]从1984年到1994年连续报道了三个带有羧基的环番化合物**1-5**、**1-6**和**1-7**(图1.2),这几个化合物不但在水中有较好的溶解性,而且对乙酰胆碱的识别能力逐渐增强。

杯芳烃同样可以通过羧基化增强水溶性。Arene^[24]等合成并研究了两种水溶性杯芳烃**1-8**和**1-9**(图1.3)在中性条件下与三甲基苯基铵(TMA)、苄基三甲基铵(BTMA)和对硝基苯基三甲基铵(BTMAN)阳离子的配位作用。

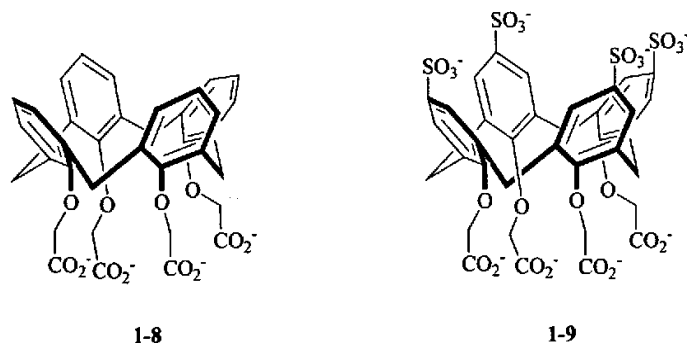


图1.3 羧基化杯芳烃衍生物**1-8**和**1-9**

美国的J. Rebek^[25, 26]等人为了改善其所合成的“深凹”的双酚类杯芳烃人工受体**1-10**的水溶性,也进行接上羧基的改进,合成了在“深凹”的双酚类杯芳烃的“凹口”位置带有羧基的深口袋型的人工受体**1-11**(图1.4)。

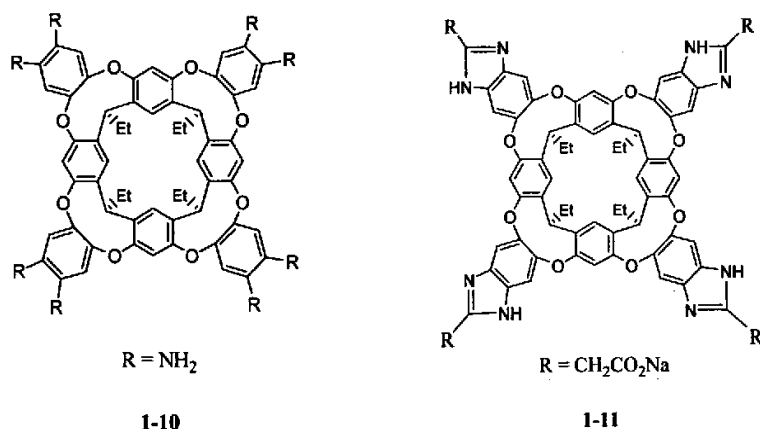


图 1.4 深口袋型的人工受体 **1-10** 和 **1-11**

除了通过磺酸化和羧基化来改善杯芳烃的水溶性,也有通过磷酸化改进杯芳

烃水溶性的报道。Maxim A.^[27]等合成了在杯芳烃的羟基进行磷酸化的新型水溶性杯芳烃**1-12** (图1.5)。这些化合物带有一个以上的磷酸，每个磷酸的 pK_a 值为2.85~3.10，所以它们在中性水溶液中可离解成负离子而溶解于水。

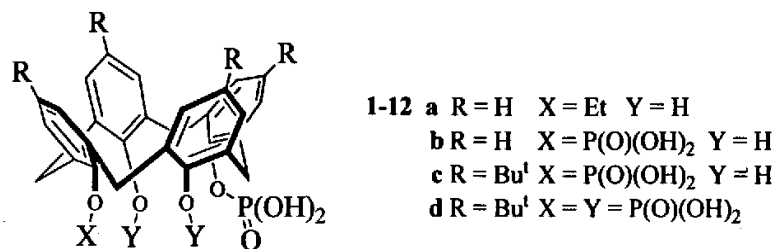


图 1.5 杯芳烃磷酸化衍生物 **1-12**

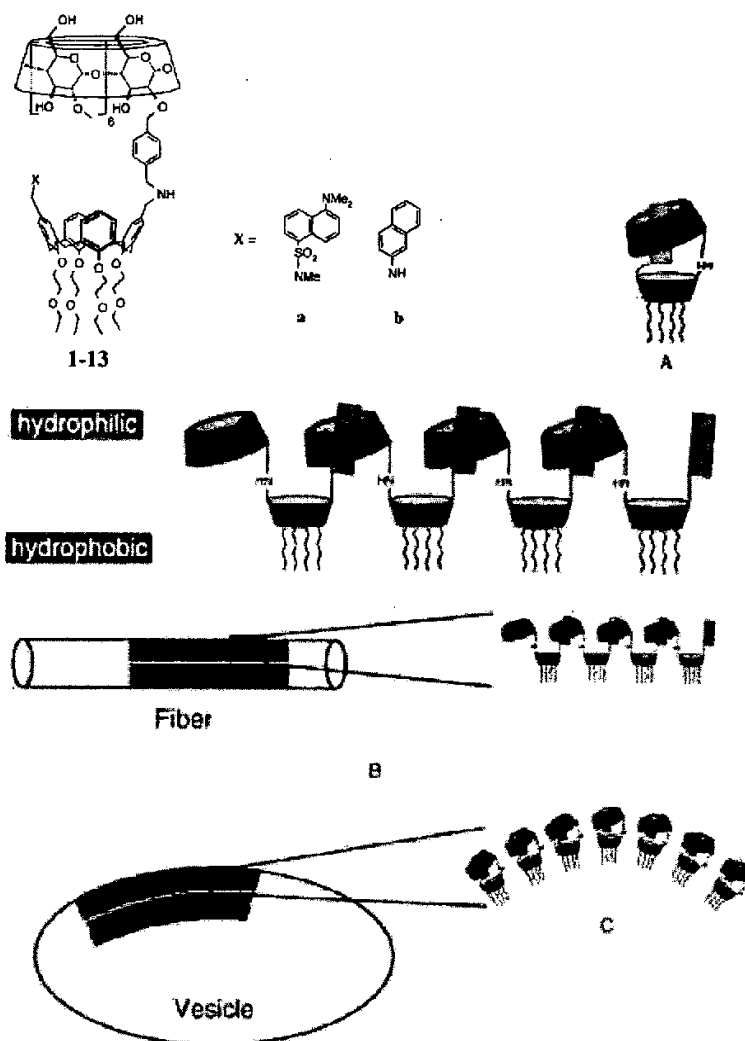


图 1.6 杯芳烃-环糊精偶合体 **1-13** 及其自组装

在杯芳烃中接上具有大量亲水性的基团也可以增强其水溶性。如 Reinhoudt

D. N.^[28, 29]等人在杯芳烃的上缘通过胺化接上环糊精, 获得了具有多点识别能力和较好水溶性的偶合体 **1-13** (图 1.6)。该化合物具有两亲性, 在水溶液中可形成“泡囊”聚集体。带有丹酰基 (图 1.6 中 **a**) 的桥联环糊精—杯芳烃衍生物 **1-13a** 无论有没有客体分子存在, 它在水溶液中都先进行自包结(**A**), 然后通过分子间作用力形成双层泡囊(**B**); 与此相反, 带有 2-氨基萘基团的桥联环糊精—杯芳烃衍生物 **1-13b** 则可以通过分子间的组装形成纤维状的主—客体配合物(**C**) (图 1.6)。这些结果不仅对于研究生物膜的结构和功能, 而且对化学传感技术以及药物分子的捕获与释放研究均具有重要意义。

1.2 携带光学信号发生体的杯芳烃

杯芳烃携带上光学信号发生体后不但可用于光学检测法灵敏快捷地对杯芳烃的性能与应用进行研究, 还可望得到实用的光学分子器件, 如荧光感应器等。而且, 这些光学信号发生体多为稠环基团, 如萘基、茋基、蒽基以及较为常见的芘基等, 也是具有丰富的 π 电子的基团, 不但可以扩大杯芳烃的空腔, 还可以增加体系的 π 电子, 大大增强该类杯芳烃对季铵阳离子的阳离子- π 键作用。

在杯芳烃上接上萘基或萘基衍生物 (如喹啉、丹酰基) 是使杯芳烃具有光学信号的一种常见方式。Myroslav O.^[30]等人 (图 1.6) 合成了在杯芳烃下缘分别携带有 1 至 4 个 1,8-亚酰胺萘基的杯[4]芳烃 **1-14~17** 和通过二亚酰胺二萘嵌苯连接起来的二杯[4]芳烃 **1-18** (图 1.7)。二萘嵌苯亚酰胺染料具有荧光性质, 且能够通过氧化反应成环、成枝状、多聚化、成液晶, 所以能共价连接或自组装而应用于半微量检测。从几何的角度, 二萘嵌苯亚酰胺染料具有纳米大小的平面可使功能化后的杯芳烃作为更好的自组装组块。因此, 作者在杯芳烃下缘接上二酰胺基萘和二萘嵌苯亚酰胺, 不但使杯芳烃的空腔扩大, 更使之成为具有光学性能的感应器和作为更大的染料体组装块。作者还发现由于 **1-18a** 上的富电子的杯芳烃是一个荧光淬灭剂, 使 **1-18a** 因光诱导电子转移而使二萘嵌苯的荧光被淬灭。**1-18b** 上虽然也有富电子的杯芳烃, 但其萘环上接有富电子的对苯叔丁基, 故不易产生光诱导电子转移, 从而有强烈的荧光吸收。据此, 作者认为化合物 **1-18a** 和 **1-18b** 具有在荧光感应器方面的应用。

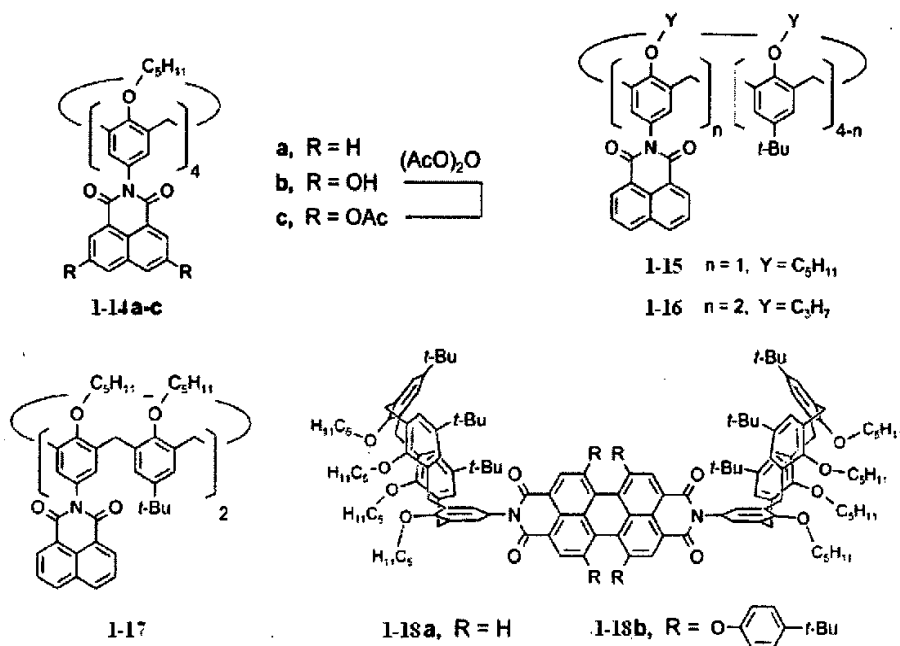


图 1.7 亚酰胺萘基化的杯芳烃 1-14~18

Leray I.^[31]等人分别通过单取代和全取代叔丁基杯[4]芳烃的羟基，接上带有吸电子—羰基和供电子基—甲氧基的萘基，合成了单萘基叔丁基杯[4]芳烃 1-19 和四萘基叔丁基杯[4]芳烃 1-20（图 1.8）。

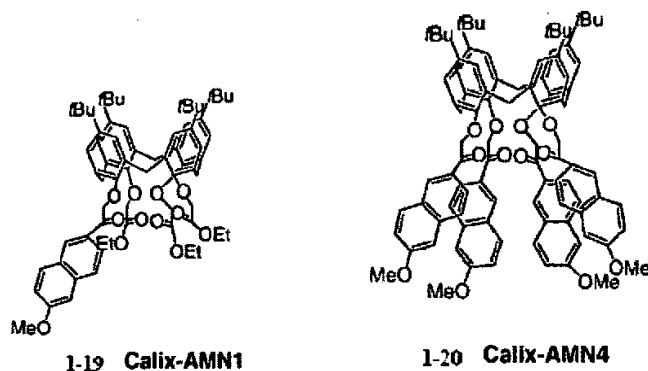


图 1.8 单萘基叔丁基杯[4]芳烃 1-19 和四萘基叔丁基杯[4]芳烃 1-20

萘基在两端的供电子基和吸电子基的共同作用下，通过光诱导电荷迁移 (Photoinduced charge transfer, PCT) 作用而具有荧光性质。当这两个功能化杯芳烃分别结合阳离子后，由于光诱导电子迁移 (Photoinduced electron transfer, PET) 作用使化合物的荧光大大增强而呈现荧光“开-关”现象。其中，四萘基杯[4]芳烃 1-20 在乙醇—水溶液中对 Na⁺、K⁺、Li⁺、Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 均有较高的选择识别性，

对 Na^+ 的识别选择性更是其余几种金属离子的 400 倍以上。

Métivier R.^[32] 等人则分别通过对称双取代和全取代叔丁基杯[4]芳烃的羟基，接上带有吸电子—磺酰基和供电子基—二甲胺基的萘基—丹磺酰基，合成了双丹磺酰基叔丁基杯[4]芳烃 **1-21** 和四丹磺酰基叔丁基杯[4]芳烃 **1-22** (图 1.9)。作者发现，化合物 **1-21** 对 Hg^{2+} 具有比对 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 更高的选择性识别 (检测限达 10^{-7} mol/L)；而且与 Hg^{2+} 所形成的 1:1 配合物可使化合物 **1-21** 的荧光被淬灭，原因在于具有较大体积的 Hg^{2+} 处于两个丹磺酰基所形成的“墙”的包围中，丹磺酰基的电子转移到金属离子中心而导致荧光淬灭。化合物 **1-22** 则对 Pb^{2+} 具有更高的选择识别性，原因则是配合物中的 Pb^{2+} 虽处于四个丹磺酰基“墙”包围中，但其价电子层还有一对电子，缩短了 Pb^{2+} 与丹磺酰基的 $\text{Pb}-\text{N}$ 键长，提高了化合物 **1-22** 对 Pb^{2+} 的配位能力。

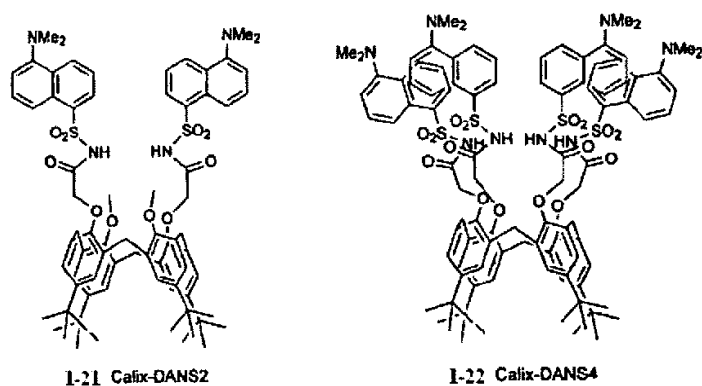


图 1.9 双丹磺酰基叔丁基杯[4]芳烃 **1-21** 和四丹磺酰基叔丁基杯[4]芳烃 **1-22**

也有报道^[33]在叔丁基杯[4]芳烃的羟基接上不同的喹啉基，合成了单喹啉基叔丁基杯[4]芳烃 **1-23** 和 **1-24** (图 1.10)。

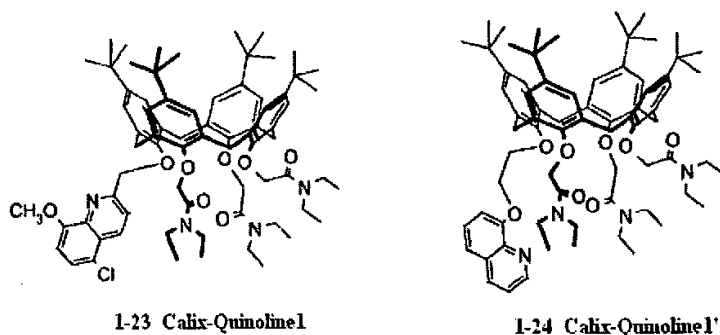


图 1.10 单喹啉基叔丁基杯[4]芳烃 **1-23** 和 **1-24**

化合物 **1-23** 和 **1-24** 均有较好的荧光性，相对其它碱金属离子和碱土金属离子而言，对 Na^+ 具有最高的选择性；与镧系金属离子中的 Nd^{3+} 、 Yb^{3+} 和 Er^{3+} 形成配合物时具有较好的发光性。

在杯芳烃接上比萘基体积更大，更富电子的蒽类基团不但可以更大的扩大杯芳烃的空腔和提高光学性能。吕鉴泉^[34]等通过取代杯芳烃苯环氢接上四个蒽醌偶氮基，合成了四个蒽醌偶氮基杯芳烃 **1-25** (图 1.11)。该化合物具有较好的荧光性，通过荧光法检测其对碱金属离子的识别性能发现钠离子能淬灭其荧光。Reinhoudt D. N.^[35]等通过取代杯芳烃的羟基氢，接上羧基或酰胺基和带有类似蒽基结构的荧光基团，合成了系列能与稀土金属离子 Nd^{3+} 和 Er^{3+} 配位的荧光性杯芳烃 **1-26**、**1-27** (图 1.11)。这些化合物与 Nd^{3+} 形成的配合物使 Nd^{3+} 的电磁谱在近红外区域的发光强度增加到 7 倍，而且在电磁谱的可见光区域有激发；而这些化合物与 Er^{3+} 形成的配合物仅是在激发状态时才观察到 Er^{3+} 的发光。

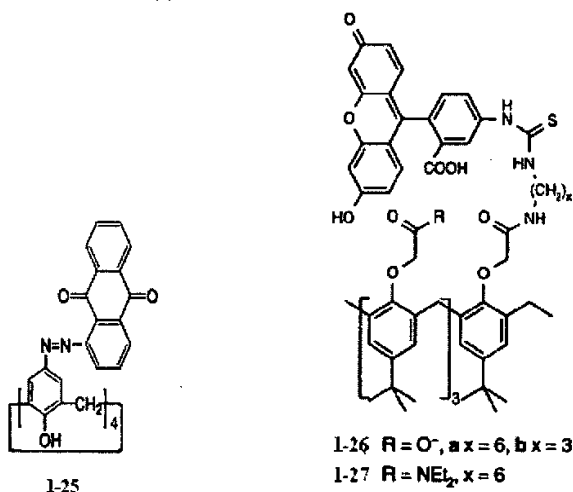


图 1.11 蒽类基团修饰的杯芳烃 **11-25~27**

在杯芳烃接上苣基是一种很常见的功能化手段。韩国的Jong Seung Kim^[36-39]在这方面做了大量的研究工作。2002年，他们^[36]合成了系列带有苣荧光基团的杯芳烃冠醚衍生物**1-28~30** (图1.12)，并研究了三个化合物与不同金属离子的配位所导致的荧光变化情况。金属离子可根据自身大小选择性的结合到这三个化合物中杯上缘或下缘的冠醚环中。当结合到下缘的带苣基的冠醚环时，能使苣基的荧光增强。结果显示， Cu^{2+} 、 K^+ 、 Pb^{2+} 和 Rb^+ 能使化合物**1-28**显示强烈的螯合致荧光增强效应(chelation-enhanced fluorescence effect, CHEF效应)， Ag^+ 、 Co^{2+} 则使

之显示相对弱的CHEF效应：化合物**1-29**对 Ag^+ 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Pb^{2+} 显示了相似的CHEF效应，但对 K^+ 和 Rb^+ 却没有CHEF效应。这说明，化合物**1-29**上缘的冠醚环对 K^+ 和 Rb^+ 更适合，而下缘的氮杂冠醚环对 Cu^{2+} 和 Pb^{2+} 更适合。化合物**1-30**在加入 Ag^+ 后，CHEF效应使化合物**1-30**荧光增强，但再加入 K^+ 却不见荧光减弱，说明化合物**1-30**的上缘冠醚环相对化合物**1-29**更大而与 K^+ 的结合强度弱于下缘冠醚环与 Ag^+ 的结合强度，故不能竞争出结合在下缘冠醚环的 Ag^+ 。2003年，他们^[37]在化合物**1-29**与 Ag^+ 的配合物中加入三氟乙酸，发现带苣基的氮杂冠醚环上的N原子可以质子化，形成季铵离子，使苣基荧光强度大大增强（图1.13）。

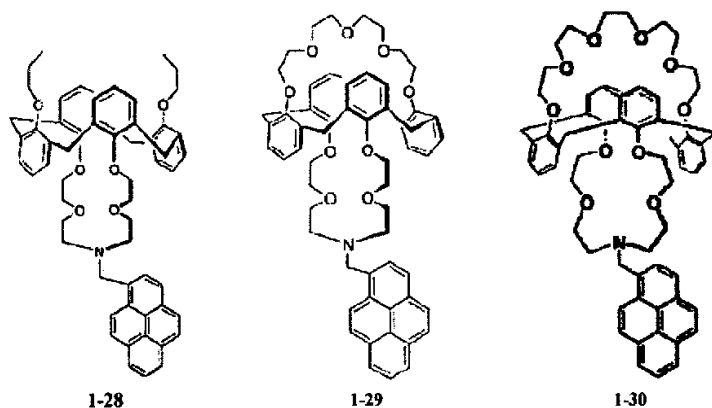


图 1.12 杯芳烃冠醚衍生物 1-28~30

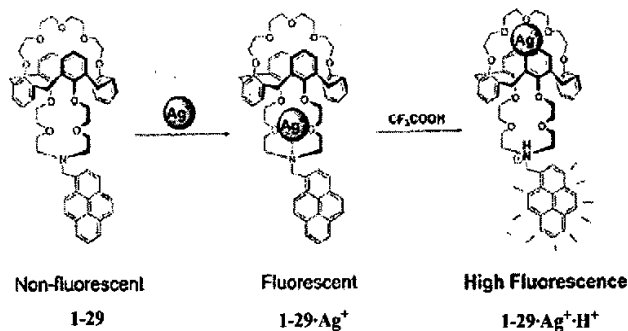


图 1.13 季铵离子的形成和荧光增强过程

2003年，他们^[37]又合成了一个在上缘带有苣的冠醚环和下缘带有氮杂冠醚的新杯芳烃**1-31**（图1.14）。通过加入金属离子后化合物的荧光变化情况和金属离子竞争实验发现该化合物对 Cs^+ 、 Rb^+ 和 K^+ 有很强的CHEF效应。

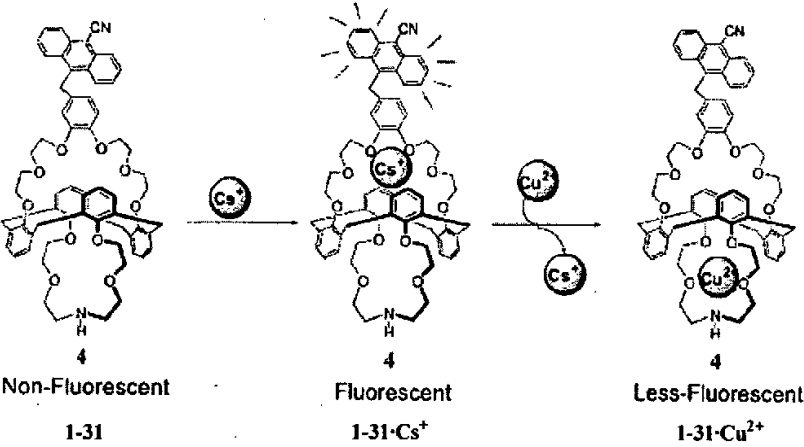


图 1.14 杯芳烃冠醚衍生物 1-31 及其金属离子竞争实验

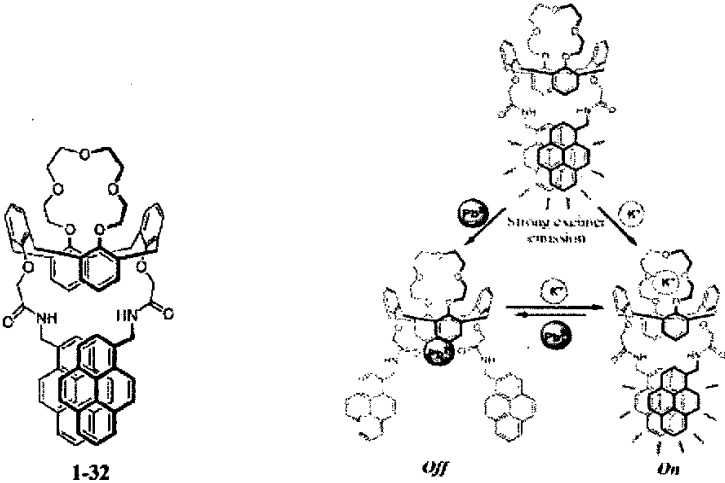


图 1.15 新型荧光化学感应器 1-32 及其开关过程

2004 年，在前面的工作的基础上他们^[38]又报道了一种新型的荧光化学感应器 1-32（图 1.15）的合成和检测。与前面的金属离子竞争实验一样，作者利用 Pb²⁺与 K⁺的竞争结合导致感应器的荧光淬灭和再生，说明了化合物 1-32 作为新型荧光化学感应器的开关过程（图 1.15）。

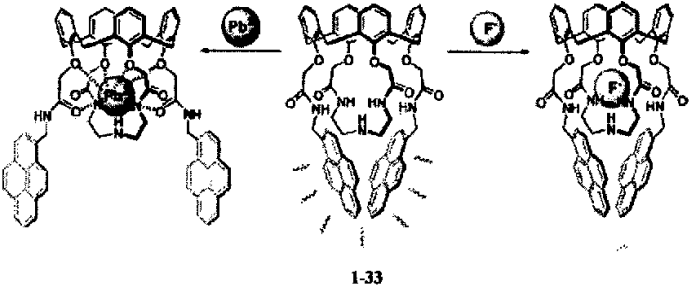


图 1.16 双功能化学感应器 1-33

2005 年, 他们^[39]又报道了一种既能结合阳离子也能结合阴离子的双功能化学感应器 **1-33** (图 1.16), 使该类化合物的功能更加强大, 应用更广。

1.3 携带手性识别体的杯芳烃

携带了手性基团杯芳烃可实现其对手性客体对手性识别。手性功能化的位置可在杯芳烃的酚羟基上, 也可在亚甲基桥上。

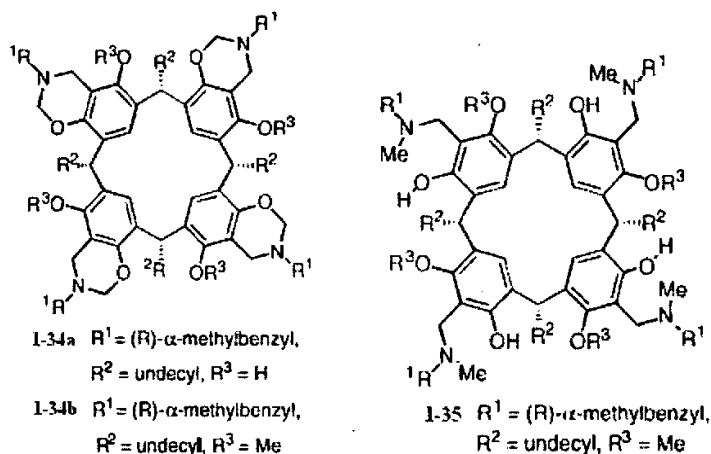


图 1.17 杯芳烃手性衍生物 **1-34** 和 **1-35**

Philip C. Bulman Page^[40]等人在 1999 年首次报道了通过对映选择性合成在杯芳烃上接上了手性基团, 以较高产率获得具有手性识别功能的杯芳烃衍生物 **1-34**、**1-35** (图 1.17)。Maxim A. Tairov^[27]等在 2002 年在叔丁基杯[4]芳烃的四个羟基接上不同的基团而使整个杯芳烃 **1-36** (图 1.18) 具备手性, 该化合物空腔口的基团排布 (图 1.18A) 显示其为具有手性识别功能的杯芳烃。实验证明, 该杯芳烃能选择性识别与手性苯胺形成盐 **1-36 · B** (图 1.18)。

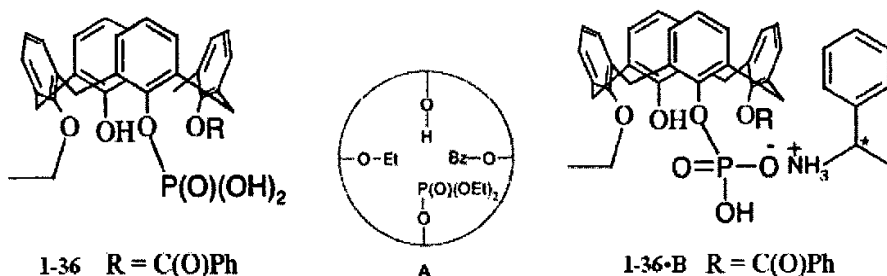


图 1.18 杯芳烃手性衍生物 **1-36** 及其盐

2002 年, Bruno Botta^[41]等在间苯二酚杯[4]芳烃的亚甲基桥上接上手性缬氨

酸乙酯 (*L*-valine)，合成了具有手性空腔的杯芳烃 **1-37** (图 1.19)。作者采用离子交换法测定了手性杯芳烃 **1-37** 对不同氨基酸的识别能力。结果表明，对不同的氨基酸，手性杯芳烃 **1-37** 对丙氨酸的两种对映异构体的选择性比色氨酸更高；对构型同为 *D*-型的氨基酸来说，**1-37** 对 *R*-氨基酸的识别能力高于 *S*-氨基酸；对构型同为 *L*-型的氨基酸来说，**1-37** 对 *S*-氨基酸的识别能力高于 *R*-氨基酸；而对 *D*-、*L*-构型而言，**1-37** 对 *D*-丙氨酸的识别能力高于 *L*-丙氨酸，但是色氨酸的情况相反 (表 1.1)。手性杯芳烃 **1-37** 可望应用于气相手性识别及作为酶催化剂。

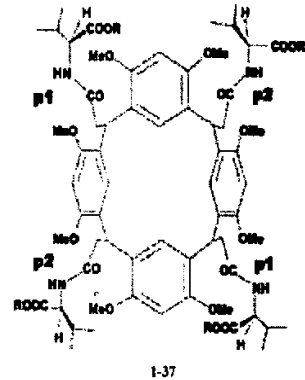


表1.1 手性杯芳烃1-37对两种氨基酸的选择性

2-butyl amine (B)	amino acid (A)			amino acid (A)		
	D-ala		k_D/k_L	L-ser		k_D/k_L
	k_D	k_L		k_D	k_L	
(R)-(-)	7.7(0.69)	5.0(0.45)	1.5 ± 0.1	4.6(0.41)	6.9(0.62)	0.7 ± 0.1
(S)-(+)	7.1(0.63)	5.9(0.53)	1.2 ± 0.1	3.8(0.34)	7.6(0.68)	0.5 ± 0.1
k_R/k_S	1.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1		1.2 ± 0.1	0.9 ± 0.1	

图 1.19 手性杯芳烃 1-37

1.4 杯芳烃的其它功能化

除上述功能化修饰方式外，关于杯芳烃的其它功能修饰也有大量报道。如作为第一代超分子主体化合物的冠醚或杂氮冠醚，由于其杂原子的富电子性和冠醚环大小的易调整性，常与杯芳烃结合，能较好的识别不同半径和电荷的金属离子和季铵离子^[42~46]。为扩大杯芳烃的空腔和增加 π 电子，常常用磷酰氯或二氯喹啉取代间苯二酚杯芳烃的邻位两羟基，形成具有宽口或“深凹”口袋型杯芳烃 **1-38a**、**1-38b**^[47~52] (**1.20**)。还有用卤代酯取代杯芳烃羟基而合成具有内疏水边缘亲水的“高颈”型杯芳烃 **1-39**^[53, 54] (图 1.20)。

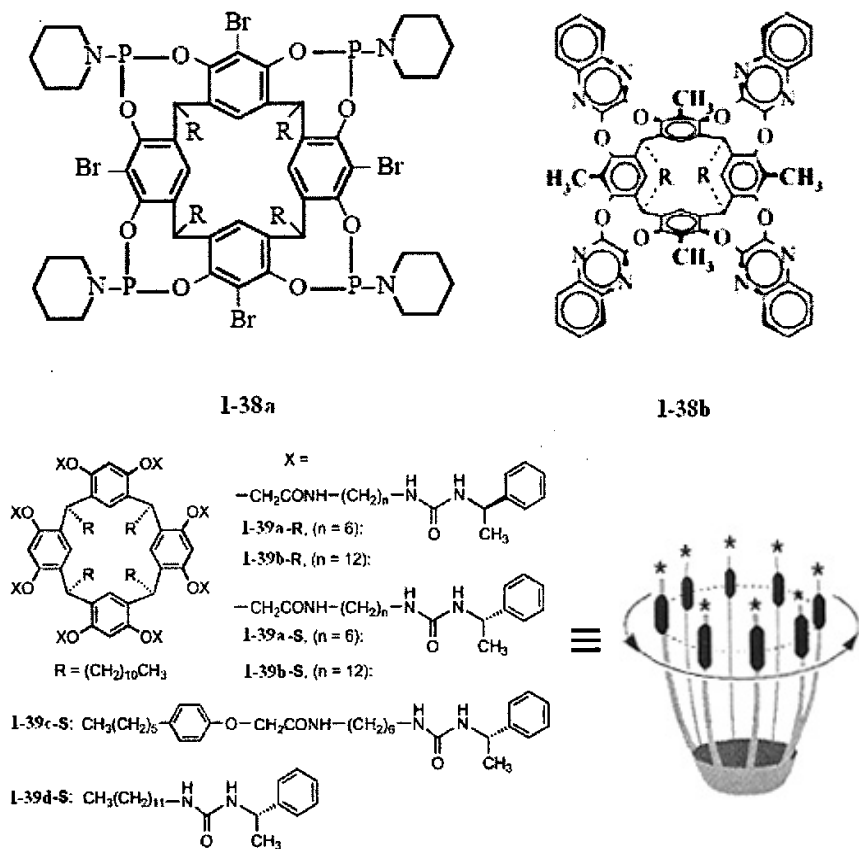


图 1.20 其它功能化杯芳烃 1-38 和 1-39

综上所述, 作为第三代超分子化学主体化合物的杯芳烃由于其自身独特的结构及丰富的可塑性显示了其在人工受体、超分子器件等方面巨大的潜在应用价值。

参考文献:

1. Shinkai S., Mori S., Koreishi H., Tsubaki T., Manabe O., Hexasulfonated Calix[6]arene Derivatives: A New Class of Catalysts, Surfactants, and Host Molecules, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 2409-2416.
2. Shinkai S., Arimura T., Satoh H., Manabe O., Chiral Calixarene, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 1495-1496.
3. Shinkai S., Kawabata H., Arimura T., Matsuda T., Satoh H., Manabe O., New Water-soluble Calixarenes Bearing Sulfonate Groups on the Lower Rim: the Relation Between Calixarene Shape and Binding Ability, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1989**, 1073-1074.

4. Shinkai S., Mori S., Araki K., Manabe O., Influence of Hexasulfonated Calix[6]arenes on the Reactivities of Arenediazonium Ions in an Aqueous System, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, *60*, 3679-3685.
5. Shinkai S., Mori S., Arimura T., Manabe O., Stabilization of Arenediazonium Ions by Complexation With Hexasulfonated Calix[6]arenes in an Aqueous System, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 238-240.
6. Shinkai S., Araki K., Manabe O., NMR Determination of Association Constants for Calixarene Complexes. Evidence for the Formation of a 1:2 Complex with calix[8]arene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 7214-7215.
7. Shinkai S., Araki K., Matsuda T., Manabe O., NMR Determination of Association Constants for Aqueous Calixarene Complexes and Guest Template Effects on the Conformational Freedom, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, *62*, 3856-3862.
8. Koh K. N., Araki K., Ikeda A., Otsuka H., Shinkai S., Reinvestigation of Calixarene- Based Artificial-Signaling Acetylcholine Receptors Useful in Neutral Aqueous (Water/Methanol) Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 755-758.
9. Liu Y., Han B. H., Chen Y. T., Inclusion Complexation of Acridine Red Dye by Calixarenesulfonates and Cyclodextrins: Opposite Fluorescent Behavior, *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 6227-6230.
10. Jin T., A New Fluorometric Method for the Detection of the Neurotransmitter Acetylcholine in Water Using a Dansylcholine Complex with *p*-Sulfonated Calix[8]arene, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **2003**, *45*, 195-201.
11. Hüseyin B., Werner M. N., Fluorescence Regeneration as a Signaling Principle for Choline and Carnitine Binding: A Refined Supramolecular Sensor System Based on a Fluorescent Azoalkane, *Adv. Funct. Mater.*, **2006**, *16*, 237-242.
12. Kazakova E. K., Makarova N. A., Ziganshina A. U., Muslinkina L. A., Muslinkin A. A., Habicher W. D., Novel Water-soluble Tetrasulfonatomethylcalix[4]resorcin- arenes, *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 10111-10115.
13. Shepodd T. J., Petti M. A., Dougherty D. A., Tight, Oriented Binding of an Aliphatic Guest by a new Class of Water-soluble Molecules with Hydrophobic Binding Sites, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 6085-6087.

14. Shepodd T. J., Petti M. A., Dougherty D. A., Molecular Recognition in Aqueous Media: Donor-acceptor and Ion-dipole Interactions Produce Tight Binding for Highly Soluble Guests, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 1983-1985.

15. Petti M. A., Shepodd T. J., Barrans J. R. E., Dougherty D. A., "Hydrophobic" Binding of Water-soluble Guests by High-symmetry, Chiral Hosts. An Electron-rich Receptor Site with a General Affinity for Quaternary Ammonium Compounds and Electron-deficient π Systems, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 6825-6840.

16. Kearney P. C., Mizoue L. S., Kumpf R. A., Forman J. E., McCurdy A., Dougherty D. A., Molecular Recognition in Aqueous Media. New Binding Studies Provide Further Insights into the Cation- π Interaction and Related Phenomena, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 9907-9919.

17. Forman J. E., Barrans J. R. E., Dougherty D. A., Circular Dichroism Studies of Molecular Recognition with Cyclophane Hosts in Aqueous Media, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 9213-9228.

18. Stauffer D. A., Dougherty D. A., Ion-dipole Effect as a Force for Molecular Recognition in Organic Media, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, 6039-6042.

19. Stauffer D. A., Barrans J. R. E., Dougherty D. A., Concerning the Thermodynamics of Molecular Recognition in Aqueous and Organic Media. Evidence for Significant Heat Capacity Effects, *J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 2762-2767.

20. Dougherty D. A., Stauffer D. A., Acetylcholine Binding by a Synthetic Receptor Implications for Biological Recognition, *Science*, **1990**, *250*, 1558-1560.

21. Dhaenens M., Lacombe L., Lehn J. M., Vigneron J. P., Binding of Acetylcholine and other Molecular Cations by a Macrocyclic Receptor Molecule of Speleand Type, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 1097-1099.

22. Meric R., Vigneron J. P., Lehn J. M., Efficient Complexation of Quaternary Ammonium Compounds by a new Water-soluble Macrocyclic Receptor Molecule, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 129-131.

23. Meric R., Vigneron J. P., Lehn J. M., Complexation of Quaternary Ammonium Cations by a new Basket-shaped Macrocyclic Cyclophane, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1994**, *131*, 579-583.

24. Arene G., Casnati A., Contino A., Lombardo G. G., Sciotto D., Ungaro R., Water-soluble Calixarene Hosts that Specifically Recognize the Trimethylammonium Group or the Benzene

Ring of Aromatic Ammonium Cations: a Combined ^1H NMR, Calorimetric, and Molecular Mechanics Investigation, *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, 738-744.

25. Pablo B., Shivanyuk A., Far A. R., Rebek J., A Synthetic Receptor for Choline and Carnitine, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 14014-14016.

26. Hof F., Trembleau L., Ullrich E. C., Rebek J., Acetylcholine Recognition by a Deep, Biomimetic Pocket, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 3150-3153.

27. Tairov M. A., Vysotsky M. O., Kalchenko O. I., Pirozhenko V. V., Kalchenko V. I., Symmetrical and Inherently Chiral Water-soluble Calix[4]arenes Bearing Dihydroxyphosphoryl Groups, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 1405-1411.

28. Bügler J., Engbersen J. F. J., Reinhoudt D. N., Novel Water-soluble β -Cyclodextrin-Calix[4]arene Couples as Fluorescent Sensor Molecules for the Detection of Neutral Analytes, *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 5339-5344.

29. Bügler J., Sommerdijk N. A. J. M., Visser A. J. W. G., Hoek A., Nolte R. J. M., Engbersen J. F. J., Reinhoudt D. N., Interconnective Host-Guest Complexation of β -Cyclodextrin-Calix[4]arene Couples, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 28-33.

30. Myroslav O., Bolhmer V. V., Wulrthner F., You C. C., Rissanen K., Calix[4]arene-Functionalized Naphthalene and Perylene Imide Dyes, *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 2901-2904.

31. Leray I., Lefevre J. P., Delouis J. F., Delaire J., Valeur B., Synthesis and Photophysical and Cation-Binding Properties of Mono- and Tetranaphthylcalix[4]arenes as Highly Sensitive and Selective Fluorescent Sensors for Sodium, *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 4590-4598.

32. Métivier R., Leray I., Valeur B., Lead and Mercury Sensing by Calixarene-Based Fluoroionophores Bearing Two or Four Dansyl Fluorophores, *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 4480-4490.

33. Casnati A., Sansone F., Sartori A., Prodi L., Montalti M., Zaccheroni N., Ugozzoli F., Ungaro R., Quinoline-Containing Calixarene Fluoroionophores: A Combined NMR Photophysical and Modeling Study, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1475-1485.

34. Lv J. Q., He X. W., Li W. Y., A Novel Fluorometric Sensor for Sodium Ion Based on Containing Anthraquinone Calix[4]arene Derivative, *Journal of Hubei Normal University (Natural Science)*, **2003**, *23*, 1-9.

35. Manon P., Wolbers O., Veggel F. C. J. M., Peters F. G. A., Beelen E. S. E., Hofstraat J.

W., Geurts F. A. J., Reinhoudt D. N., *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, 772-781.

36. Kim J. S., Shon O. J., Rim J. A., Kim S. K., Yoon J., Pyrene-Armed Calix[4]aza-crowns as New Fluorescent Ionophores: "Molecular Taekowndo" Process via Fluorescence Change, *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 2348-2351.

37. Kim J. S., Shon O. J., Rim J. A., Kim S. K., Yoon J., Molecular Taekwondo.2. A New Calix[4]azacrown Bearing Two Different Binding Sites as a New Fluorescent Ionophore, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 597-600.

38. Kim J. S., Lee S. H., Lee J. Y., Bartsch R. A., Kim J. S., An Excimer-Based, Binuclear, On-Off Switchable Calix[4]crown Chemosensor, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 16499-16506.

39. Kim J. S., Lee J. Y., Kim J. S., Jung J. H., Bifunctional Fluorescent Calix[4]arene Chemosensor for Both a Cation and an Anion, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1463-1466.

40. Page P. C. B., Heaney H., Sampler E. P., The First Enantioselective Syntheses of Axially Chiral Enantiomerically Pure Calix[4]resorcinarene Derivatives, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6751-6752.

41. Botta B., Botta M., Filippi A., Tafi A., Monache G. D. Speranza M., Enantioselective Guest Exchange in a Chiral Resorcin[4]arene Cavity, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 7658-7659.

42. Wright A. J. Matthews S. E., Fischer W. B., Beer P. D., Novel Resorcin[4]arenes as Potassium-Selective Ion-Channel and Transporter Mimics, *Chem. Eur. J.*, **2001**, *7*, 3474-3481.

43. Pappalardo S., Parisi M. F., Selective *endo*-Calix Complexation of Linear Alkylammonium Cations by Functionalized (1,3)-*p*-tert-Butylcalix[5]crown Ethers, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8724-8725.

44. Oueslati I., Abidi R., Thuery P., Nierlich M., Asfari Z., Harrowfield J., Vicens J., Synthesis and complexing properties of methylated calix[4](aza)crown derivatives, *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 8263-8267.

45. Oueslati I., Abidi R., Amri H., Thuery P., Nierlich M., Asfari Z., Harrowfield J., Vicens J., Cation- and Solvent-induced Conformational Changes of 25,27-dimethoxy-26,28-dimethylester-*p*-tert-butylcalix[4]arene, *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 8439-8443.

46. Talanov V. S. Talanova G. G. Bartsch R. A., New Proton-ionizable, Cesium-selective Calix[4]arene-bis(crown-6-ethers) with Markedly Enhanced Extraction Efficiency, *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 8221-8224.

47. Pirondini L., Stendardo A.G., Geremia S., Campagnolo M., Samor P., Rabe J. P., Fokkens R., Dalcanale E., Dynamic Materials through Metal-Directed and Solvent-Driven Self-Assembly of Cavitands, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1384-1387.
48. Castro P. P. Zhao G., Masangkay G. A., Hernández C., Gutierrez-Tunstad L. M., Quinoxaline Excision: A Novel Approach to Tri- and Diquinoxaline Cavitands, *Organic Letters*, **2004**, *6*, 333-336.
49. Ihm H., Ahn J. S., Lah M. Soo., Ko Y. H., Paek K., Oligobisvelcralex: Self-Assembled Linear Oligomer by Solvophobic δ - δ Stacking Interaction of Bisvelcrands Based on Resorcin[4]-arene, *Organic Letters*, **2004**, *6*, 333-336.
50. Lippmann T., Wilde H., Synthesis and Configurational Analysis of a Novel Class of Cavitands Containing Four Dioxaphosphocin Moieties, *J. Org. Chem.* **1996**, *60*, 235-242.
51. Grigor'eva A. N., Krasil'nikova E. A., Gavrilova E. L., Burilov A. R., Habicher W. D., Pudovik M. A., Konovalov A. I., Cyclic Phosphorochloridites and Phosphorochloridates Derived from Bromocalix[4]resorcinolarenes, *Russian Journal of General Chemistry*, **2003**, *73*, 1358-1361.
52. Maslennikova V. I., Merkulov R. V., Dyagileva M. V., Vasyanina L. K., Lyssenko K. A., Yu A. M., Weber D., Bauer I., Habicher W. D., Nifant'ev E. E., Cyclophosphorylation of Polyphenols by Diamidoarylphosphites, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 1753-1761.
53. Hayashida O., Ito J., Matsumoto S., Hamachi I., Urea-functionalized Resorcinarenes: Preparation, Self-folding, and Their CD Phenomena Caused by Chiral Urea Termini through Intramolecular Hydrogen Bonding Interactions, *Chemistry Letters*, **2004**, *33*, 994-995.
54. Hayashida O., Ito J., Matsumoto S., Hamachi I., Preparation and Unique Circular Dichroism Phenomena of Urea-functionalized Self-folding Resorcinarenes Bearing Chiral Termini through Asymmetric Hydrogen-bonding Belts, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 654-660.

第二章 新型荧光探针的合成及性能研究

2.1 前言

2.1.1 荧光竞争包结检测法与荧光探针

当客体与主体形成配合物时，我们常用该配合物的稳定常数，也就是主体分子对客体分子的包结常数来表征主体对客体的识别能力大小。测定包结常数的方法很多，经典方法包括了光谱法（如核磁共振法、紫外/可见光谱法、荧光光谱法、圆二色光谱法和质谱法）、电化学方法（如电动势法、极谱法、电导法和离子选择电极测定）、热力学法（如量热法、萃取法、离子交换法、溶解度测量和分压测量）和一些特殊的方法（如反应动力学和包括光谱、电动势等的竞争法）^[1]。在这些方法中，光谱法由于操作简便、快捷和检测限低而较为常用。在早期的杯芳烃类受体对季铵类离子的识别检测中，核磁共振法是用得最为频繁的一种方法。第一章所叙述的杯芳烃类受体对季铵类离子的包结常数中，大部分都是通过核磁滴定法所得。核磁共振法除能反映受体对客体的识别能力，还能给出所形成的超分子复合物的结构信息。但是，该法也有其自身的缺点，就是只能检测小于 10^4 (mol/L)⁻¹^[2] 的结合常数，而很多杯芳烃类受体对乙酰胆碱的包结常数常常能达到 10^5 (mol/L)⁻¹，此时只能采用其他光谱法进行检测。

相对于其它波谱法，荧光光谱法有着独特的特点^[3]：(1)灵敏度高，比紫外/可见光谱法高 2~3 个数量级，检测限达 10^{-12} ~ 10^{-11} g/mL；(2)选择性强，既能依据特征发射谱又能利用激发光谱或依据特征吸收来鉴定物质；(3)取样容易，需要样品量少；(4)能提供较多的物理参数信息，如激发谱、发射谱、荧光强度。总荧光量、量子产率、荧光寿命、荧光偏振、谱带宽度和斯托克斯位移等。因此，荧光光谱法有着较为诱人的应用前景。

在一些主客体识别的研究中，由于主体和客体都没有荧光性，荧光光谱法常与竞争法结合：在主体化合物(H)中加入荧光探针(P)形成超分子复合物(H·P)，然

后再加入客体分子(G)，此时一部分探针(P)被客体分子顶出主体空腔，从而引起光谱上的变化，此法称为荧光竞争包结法。

以间苯二酚杯[4]芳烃主体、乙酰胆碱客体和芘衍生物荧光探针体系为例。当富电荷的主体化合物 H 包结了荧光探针 P 后，主体化合物 H 上的电子迁移到处于激发态的荧光探针上，从而使得荧光探针 P 的荧光被淬灭 (PET 机理^[4])。此时往包结物 H·P 中加入乙酰胆碱，部分的荧光探针 P 便会从主体化合物 H 中解离出来到溶液中，此时便出现荧光再生的现象。通过研究加入的乙酰胆碱的量与特定波长的荧光强度变化量之间的关系，可间接测量出主体化合物 H 对乙酰胆碱客体 G 的识别能力 (图 2.1)。

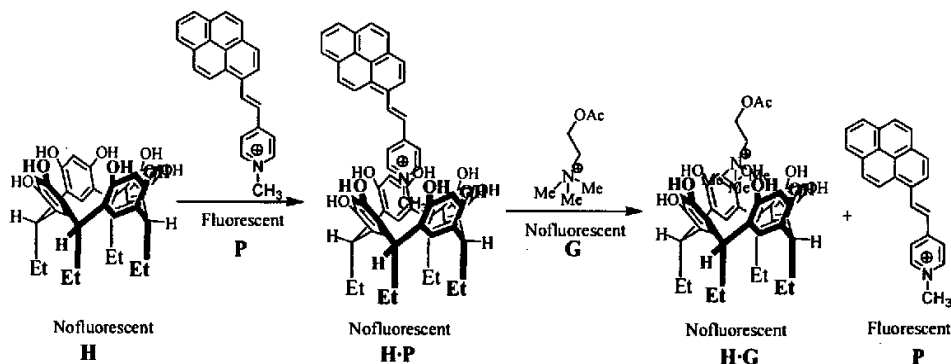


图 2.1 荧光竞争法的原理

该法可实现对乙酰胆碱的非破坏性发光检测，关键在于找到合适的荧光探针。早在上世纪 90 年代，Inouye^[5]等和 Shinkai^[6]等利用芘的衍生物 2-1 (图 2.2) 作为荧光探针进行了对乙酰胆碱的非破坏性荧光检测，但在他们的测试条件中为了抑制该探针的聚合，使用了与生理条件有所区别的甲醇为溶剂之一。该探针后来虽也被继续使用，如我们课题组^[7]利用该探针和荧光竞争法测量了四氰基杯[4]芳烃在中性水溶液对乙酰胆碱的识别能力，但因其在水溶液中的溶解性不好、高浓度下易发生自身 π - π 堆积的聚集、荧光重生效率低、荧光淬灭改变量小和对更大的主体杯无法使用等缺点^[8]，使之在无法获得较广泛的使用。2003 年，T. Jin^[9]等人采用丹酰氯衍生物(DANCh)2-2 (图 2.2) 代替芘衍生物为荧光探针与磺酸化杯[8]芳烃组成新的可在水溶液中的荧光检测体系。但该体系要求乙酰胆碱的浓度要超过 10^{-4} mol/L，大于生物体系中乙酰胆碱的浓度；而且不能区分胆碱与乙酰胆碱。最近，Werner M. Nau^[8]等人找到了一种新的荧光探针—四氢哒嗪衍生物(DBO) 2-3 (图 2.2)，与磺酸化杯[4]芳烃组成一个新的荧光检测体系。与以

往的荧光探针皆为有机阳离子不同的是,该探针是一个中性的有机分子。在酸性和中性水溶液中,它都能与磺酸化杯芳烃形成盐而被包结到杯中,但在酸性条件下包结更强些。该探针被杯芳烃 1:1 包结后,由于整个分子都处于杯芳烃的空腔中(不象芘的衍生物等只有很小一部分在空腔中),荧光被淬灭,强度大大降低(约 90%),故很易观察到荧光变化情况;当该探针被客体分子置换时,也很容易观察到荧光的再生情况。但是,该检测体系对乙酰胆碱的检测浓度为 10^{-3} mol/L,远远高于生物体内乙酰胆碱的浓度。

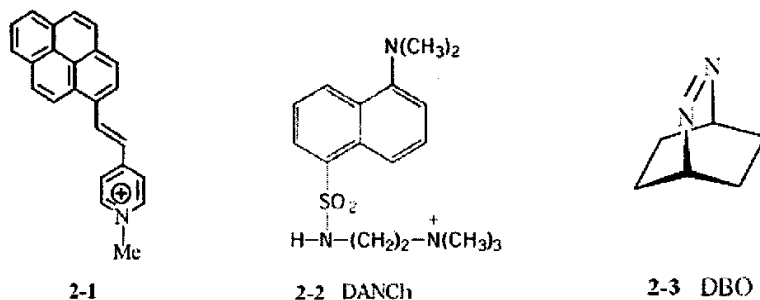


图 2.2 三种荧光探针 2-1、2-2 和 2-3

综上所述,以往的荧光探针存在着非生理条件、荧光变化不明显和检测限高等缺点,所以有必要开发新的能在生理条件(或中性水溶液)中使用,有较明显的荧光变化现象和较低检测限(这也与主体化合物有关)的荧光探针。

2.1.2 选题意义与立题思想

吡啶盐类化合物与季铵类阳离子有着相似的结构,而且对杯芳烃类化合物有着相似的包结方式和相近的包结常数,其被包结到杯芳烃主体空腔中后易被乙酰胆碱及其相似季铵离子顶出,故常被设计成荧光探针。带正电性的吡啶盐阳离子以共轭形式接到具有较大离域共轭结构的基团上,可提高了化合物的分子超极化率,使共轭链中的 π 电子变得较为松弛,分子在外场中更易发生分子内的电荷转移,从而具有较好的荧光性能^[10]。

目前使用的芘的吡啶盐探针水溶性不好,且与杯芳烃结合后,荧光淬灭不明显^[7],一方面与探针自身的荧光性能不够理想,且与杯芳烃的包结不够深入,不能很好的进行光诱导电子转移(PET)^[5]过程有关。此外,该探针中处于“杯口”的大体积的芘基对季铵离子客体与杯芳烃主体的竞争结合可能造成一定的空间

阻碍。

针对以上问题，我们在芘的衍生物探针的基础上，设计了具有线形结构的芘的吡啶盐衍生物 **2-4**（图 2.3）作为新的荧光探针。相比于芘的衍生物探针，作为荧光增白剂的芘通过反式双键与吡啶盐连接所得的线形结构化合物—芘的吡啶盐衍生物，具有较大的 π 电子离域范围和共轭链中松弛的 π 电子，可望有较好的荧光性能。而且，由于杯芳烃对线形季铵离子有较好的包结能力，能较深入的包结线形分子^[11]，线形结构的芘衍生物探针，被包结杯芳烃主体空腔时，不会像芘基那样在空腔口形成阻隔板，将利于季铵离子客体的竞争结合，故可望线形结构的芘吡啶盐探针在荧光竞争实验中有较明显的荧光淬灭和重生情况。同时，为了考察分子形状对竞争包结的影响等，我们还合成了空间阻碍适中的萘的吡啶盐探针 **2-5**，通过比较三种不同空间阻碍的探针（芘、芘和萘的吡啶盐衍生物探针 **2-1**、**2-4** 和 **2-5**）的水溶性、在荧光竞争实验中的荧光变化情况，可望得到关于荧光竞争法和荧光探针方面的更多信息。

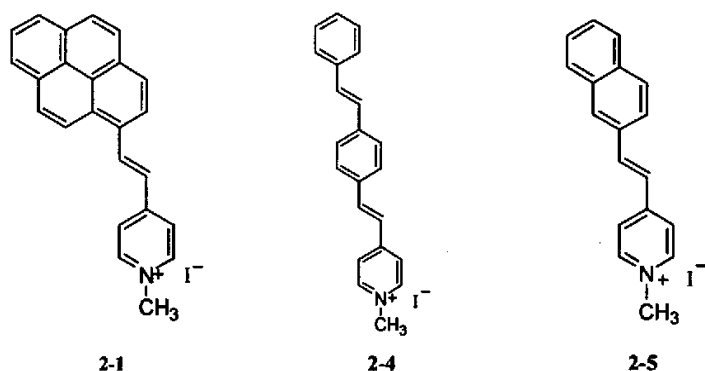


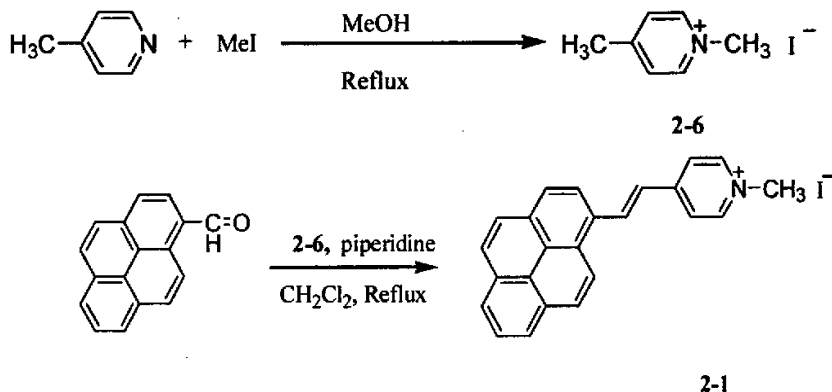
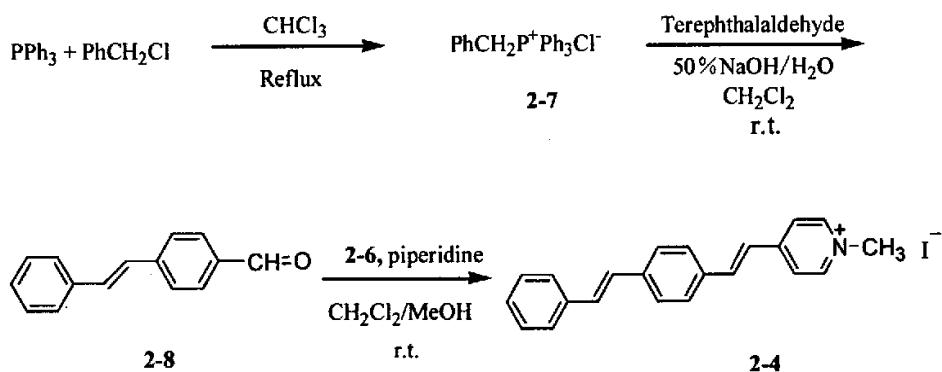
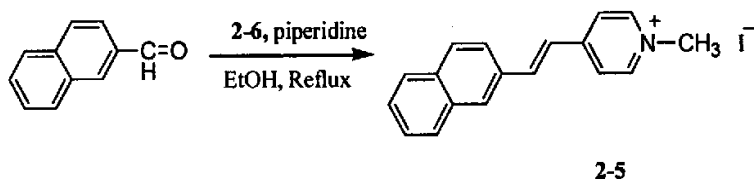
图 2.3 三种吡啶盐类探针

2.2 三种吡啶盐类探针（2-4、2-5 和 2-1）的合成

2.2.1 合成路线

目标化合物三种吡啶盐类探针 **2-1**、**2-4** 和 **2-5** 采用图 2.4、2.5、2.6 所示的路线合成。其中母体碘化 1, 4-二甲基吡啶盐 **2-6** 参考文献^[12]方法，过量的碘甲烷与 4-甲基吡啶以甲醇为溶剂 70℃回流 2 小时以上而得。而反-4-苯乙烯苯甲醛 **2-8** 的合成参考文献方法^[13]，以三苯基膦和苄基氯为原料，氯仿为溶液，先生成苄

基三苯基氯化磷，再经 Wittig 反应得到。三种醛（反-4-苯乙烯苯甲醛 **2-8**、2-萘甲醛、1-萘甲醛）均以六氢吡啶为催化剂，分别与碘化 1, 4-二甲基吡啶盐 **2-6**，经缩合反应生成目标物 **2-4**、**2-5** 和 **2-1**。

图 2.4 萘吡啶盐探针 **2-1** 的合成图 2.5 萘吡啶盐探针 **2-4** 的合成图 2.6 萘吡啶盐探针 **2-5** 的合成

主体化合物间苯二酚杯[4]芳烃 **2-9** 的合成参考文献^[7]的做法，用间苯二酚于正丙醛，在盐酸的催化下，通过缩合反应而得。

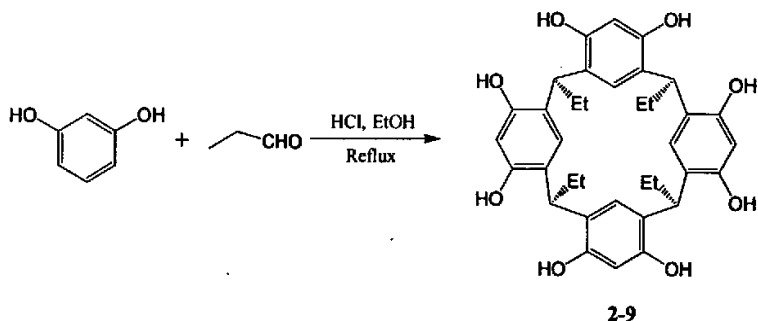


图 2.7 间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 的合成

2.2.2 结果与讨论

2.2.2.1 碘化 1,4-二甲基吡啶盐 2-6 的合成

1,4-二甲基吡啶盐是合成其它吡啶盐的重要母体,在六氢吡啶的催化下,它与醛通过缩合脱水生成最终需要的吡啶盐类衍生物^[12, 14, 15]。该母体的合成较为简单,使用过量的高反应活性碘甲烷与 4-甲基吡啶,在甲醇溶剂中通过充分的搅拌回流,便可以得到几乎定量转化的目标物。过量的碘甲烷和溶剂可通过减压浓缩除去,浓缩所得的固体化合物只需重结晶一次便可投入到下一步反应中。一般采用异丙醇为重结晶溶剂^[12]。

为了使 1,4-二甲基吡啶完全转化,我们用三倍以上的量的碘甲烷与 4-甲基吡啶反应,在回流的情况下反应三个小时以上,TLC 跟踪反应发现三个小时后,4-甲基吡啶反应几乎 100%转化,反应液浓缩至干燥固体后,TLC (环己烷/乙酸乙酯=2/1 和 正丙醇/乙酸乙酯/水/浓氨水=5/1/1/1) 检测无 4-甲基吡啶原料,且只有一个新的产物点。由于该法比较成熟,且据 TLC 情况估计为目标产物,故浓缩干燥后的浅黄色固体未作进一步的纯化和结构鉴定,直接用于下一步反应。

2.2.2.2 Wittig 反应合成反-4-苯乙烯基苯甲醛 2-8

反-4-苯乙烯基苯甲醛 2-8 的合成方法很多,关键在于两个苯环如何用双键连接起来。双键的构建在经典方法中有很多种方法,其中 Wittig 反应和偶联反应由于有着较高的产率和立体选择性,较受青睐。随着更多更好的催化剂和更成熟的反应方法(如微波法)的出现,偶联反应的发展变得更加的成熟和多样化,如

Sonogashira、Heck、Suzuki、Still 和 Cyanation 反应等。特别是用 Heck 反应结合微波法合成反-4-苯乙烯苯甲醛的报道^[16-18]很多，且产率往往有 90%以上，几乎为反式结构。但是，该类反应都需要用到贵金属 Pd 或其配合物为催化剂，成本较高；而且反应常常要求无水无氧，条件比较苛刻。该类反应目前仅是在实验室小量制备使用，无法大量制备需求量较大的中间体。

相比于偶联反应，Wittig 反应虽没有 90%以上的产率和很专一的反式产物，但其操作可在水相和有机相同时进行，较为简便；原料主要为三苯基磷，相对较便宜；产率也常能达到 80%以上和得到较好的专一产物^[19, 20]。所以，我们采用了 Wittig 反应进行反-4-苯乙烯苯甲醛的合成。

参考文献^[13]的操作，利用三苯基磷和氯化苄在氯仿溶剂中合成了 Wittig 反应的中间体——苄基三苯基氯化磷盐 2-7。在该化合物的质谱 (ESI-MS) 中，检测到 $m/z=353$ 的峰和 $m/z=354$ 的峰，分别对应于苄基三苯基氯化磷盐脱去氯离子后的阳离子峰及其同位素峰。然后参考文献^[13]合成 1,2-二苯乙烯的条件和操作，将苄基三苯基氯化磷与对苯二甲醛在碱催化下室温反应。并在该反应中着重考察了原料配比的影响。

由于对苯二甲醛上的两个醛基均可与苄基三苯基氯化磷，反应容易出现两个醛基都参与反应的副产物，从而降低目标物的产率，并给分离造成困难。从这个角度分析，似乎采用 1:1 的苄基三苯基氯化磷/对苯二甲醛的投料比比较合适。但在实际采用 1:1 投料比的反应中采用 TLC 跟踪反应进程中，不仅观察到不可避免地会形成两个醛基都反应的副产物，而且观察到有极性很大的物质点形成，分析估计与醛在反应中的氧化有关，因此，我们提高了对苯二甲醛的投料比到 1:2，结果在加入碱液后室温下继续搅拌 30 分钟便可获得较理想产率 (50%) 的目标物。

合成 1,2-二苯乙烯时是采用乙醚进行萃取^[13]，但本实验的目标物不同，当采用乙醚萃取时，易在水与乙醚之间形成乳化层，不便于萃取分离，且干燥时需消耗较多的干燥剂。经过实验发现目标产物在二氯甲烷中有较好的溶解性，且反应溶剂亦为二氯甲烷，因此直接在反应液中加入二氯甲烷和水进行萃取，未出现乳化层，萃取效果较好。

萃取所得有机相经干燥后，TLC 发现出现四个新点 (图 2.8)。其中 1、2 点

的量较少, 3、4 点的量相对较多, 在 254nm 的紫外灯下观察, 1、2、4 点显荧光, 故据板上情况估计 1、2 点为对苯二甲醛的两个醛基均进行了 Wittig 反应的产物, 3 点为顺式对苊甲醛产物, 4 点才为目标产物。参考文献^[13]的纯化方法, 用乙醇进行重结晶, 未能获得纯目标产物, 改为普通硅胶色谱柱分离, 分别得到 18.0% 的顺式和 32.0% 的反式 4-苯乙烯苯甲醛。后来发现顺式产物在下一步反应中可以转化为反式, 得到所需要的目标产物。所以, 以后的分离中只需要除去两个醛基都反应的副产物即可。

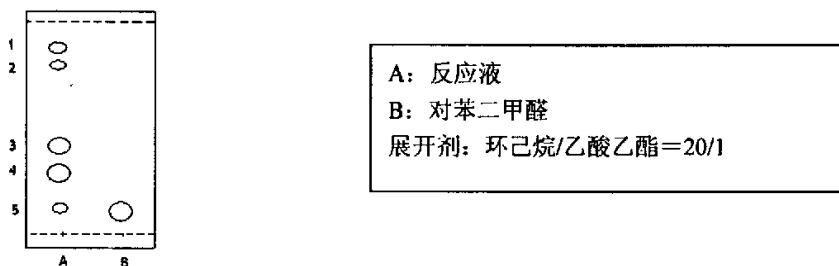


图 2.8 2-8 的合成反应液 TLC 情况

化合物 2-8 的结构得到核磁共振氢谱的确认。在化合物 2-8 的 ^1H NMR (附图 1.2) 中, 9.95 处有一组积分为 1 的单峰, 这对应于化合物 2-8 的醛基; 7.11 和 7.23 处各出现一组积分为 1 的二重峰, 且两组峰的偶合常数相同 (均为 16.2), 这对应于连接两个苯环的反式双键; 其余峰均与苯环氢一一对应。

2.2.2.3 化合物 2-4、2-5 和 2-1 的合成

在六氢吡啶的催化下, 醛容易与具有活泼氢的亚甲基缩合脱水成反式双键。1, 4-二甲基吡啶阳离子的 4-甲基基在正电中心吸电子诱导作用下, 变得很活泼, 所以能与醛在六氢吡啶的催化下生成各种通过双键连接的吡啶盐类化合物。在该类反应中, 一般将醛溶解于四氢呋喃, 而将碘化 1, 4-二甲基吡啶盐和六氢吡啶溶解于醇类溶剂中, 混合两种溶液, 在室温下搅拌, 产物由于一般不易溶于四氢呋喃中常以沉淀析出。

参考文献^[6], 化合物 2-4 的缩合合成反应采用四氢呋喃和甲醇为溶剂, TLC 跟踪反应过程中, 发现反应液成分较为复杂。在 254nm 紫外灯观察除了原料点外, 还有不止一个以上的新点出现(荧光点只有一个), 这些点与荧光点非常靠近, 一般的萃取分离和重结晶都无法得到纯目标物; 由于吡啶盐极性较大, 亦难以用硅胶色谱柱纯化。因此改用比四氢呋喃极性更小但对原料化合物 2-8 溶解性更好

的二氯甲烷代替四氢呋喃为反应溶剂，结果反应产物单一，TLC 只发现除原料点外的一个新的荧光点，而且在室温下反应随着反应物的不断产生，反应液出现大量沉淀，过滤并稍加洗涤即可得到较纯的产物，大大简化了后处理。

化合物 **2-5** 的缩合合成反应中，采用四氢呋喃和甲醇为溶剂同样发现上述副产物较多的情况。后采用文献^[21]的方法，只用乙醇为溶剂，获得了目的化合物 **2-5**，产率（38.6%）比文献报道值（24%）高。

参考文献^[6]的方法，化合物 **2-1** 的缩合合成反应采用四氢呋喃和甲醇为溶剂，虽未出现类似上述副产物较多的情况，但后处理过程中四氢呋喃不易除去，产物难以干燥，而且反应时间较长（8 h）、产率不高（38%）。后来改用了二氯甲烷/甲醇体系为溶剂，反应 3 小时即可见大量沉淀产生，反应液用少量甲醇和二氯甲烷洗涤可得纯目标物。该滤液在室温下放置过程中随着溶剂的挥发又出现大量结晶，过滤并稍加洗涤后，TLC 验证为目标产物，说明滤液中尚存大量目标物。因此在后来的后处理中，先将反应液浓缩后再过滤洗涤，大大提高了产率（68.97%）。

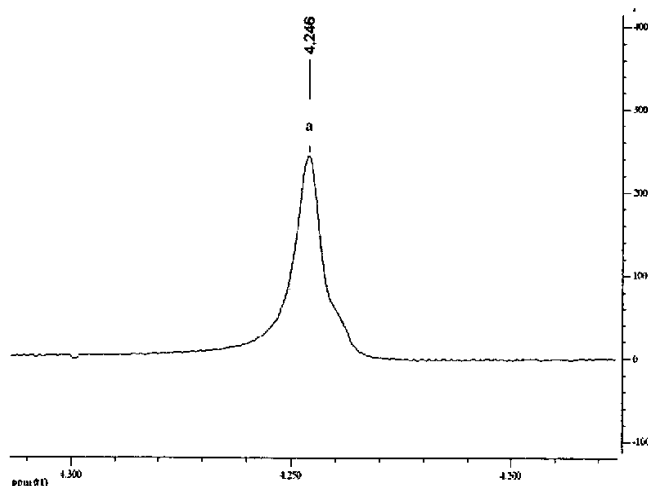
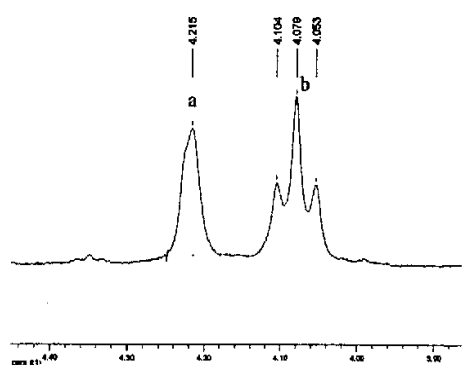
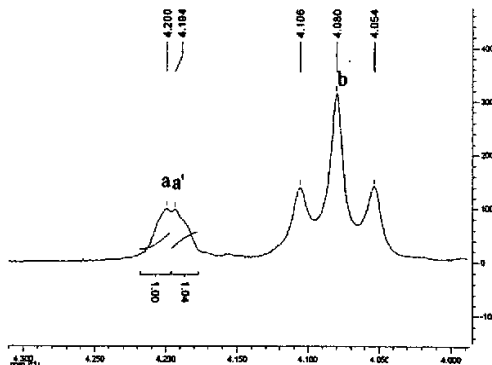
三种吡啶盐探针 **2-4**、**2-5**、**2-1** 的结构均得到质谱和核磁共振氢谱的确认。在质谱中，分别可看到化合物 **2-4** 的阳离子峰 $m/z=298$ （附图 1.4）、化合物 **2-5** 的阳离子峰 $m/z=246$ （附图 1.6）和化合物 **2-1** 的阳离子峰 $m/z=320$ （附图 1.8）。在核磁共振氢谱中，均可看到吡啶环的氮甲基单峰和相应的反式双键氢的峰等（附图 1.3、1.5 和 1.7）。

2.3 新型苊吡啶盐探针 **2-4** 与间苯二酚杯[4]芳烃 **2-9** 的包结作用与性能研究

2.3.1 新型苊吡啶盐探针 **2-4** 与间苯二酚杯[4]芳烃 **2-9** 的包结方式

虽然 ^1H NMR 滴定法对测定主体化合物对客体化合物的包结常数存在着检测限过高的缺点，无法准确测定高结合常数的主-客体复合物^[2]，但却能较好的反映出主-客体复合物的结构信息。所以，通过比较苊吡啶盐探针 **2-4** 与杯芳烃 **2-9** 不同比例混合前后的 ^1H NMR 图中质子化学位移变化情况，可以考查杯芳烃 **2-9** 是否可以包结探针 **2-4** 及其包结方式。考虑到杯芳烃 **2-9** 与探针 **2-4** 的溶解性，我们选用对两者均有较好溶解性、pH 值约为中性的氘代 DMSO 为溶剂。

通过比较苈吡啶盐探针 **2-4** 与杯芳烃 **2-9** 不同比例混合前后的 ^1H NMR 图, 发现探针 **2-4** 的氮甲基氢(N-CH_3)峰(图 2.9 中 4.246 ppm 处的单峰 **a**), 随着杯芳烃比例的逐渐增大, 慢慢出现两重不等面积的峰(图 2.9~2.15 中峰 **a** 和 **a'**, 三重峰 **b** 为杯芳烃 **2-9** 的亚甲基叔碳氢的峰, 下同); 其中, 处于高场的峰积分面积越来越大(图 2.9~2.14 中峰 **a'**)。由此可以推断: 探针 **2-4** 是以 N 甲基一端插入到杯芳烃 **2-9** 中。插入到杯芳烃 **2-9** 中的探针 **2-4** 的 N 甲基处于杯芳烃 **2-9** 苯环上方, 受到苯环上方的强屏蔽作用使其化学位移移向高场, 从而出现两种 N 甲基的峰。随着杯芳烃 **2-9** 的量的增加, 插入到其中的探针 **2-4** 的量也增加, 故高场的 N 甲基的峰面积与低场的 N 甲基的峰面积比越来越大。但该线形探针的末端苯环上氢的峰并没出现如上述高场移动的情况, 所以可以肯定该探针的末端苯环没有插入另一分子杯芳烃 **2-9** 的空腔。这说明该探针与杯主要以 1:1 络合比结合。

图 2.9 探针 **2-4** 的氮甲基氢(N-CH_3)峰图 2.10 探针 **2-4** 与杯 **2-9** 的比例为 1:2图 2.11 探针 **2-4** 与杯 **2-9** 的比例为 1:4

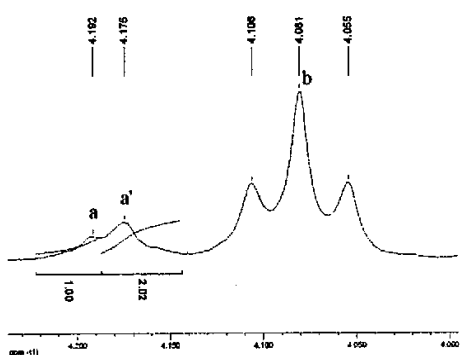


图 2.12 探针 2-4 与杯 2-9 的比例为 1:6

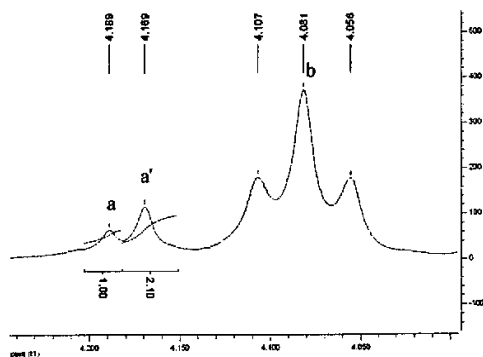


图 2.13 探针 2-4 与杯 2-9 的比例为 1:8

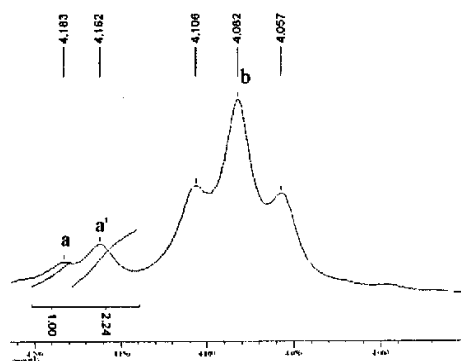


图 2.14 探针 2-4 与杯 2-9 的比例为 1:10

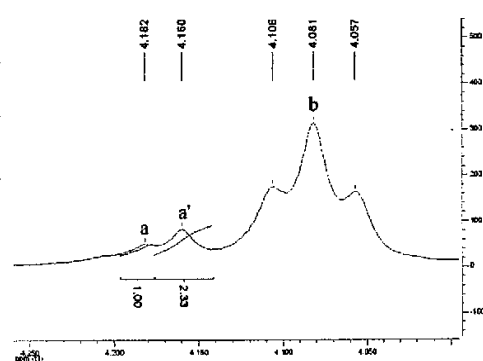


图 2.15 探针 2-4 与杯 2-9 的比例为 1:10.5

从上述结果可以发现，加入杯芳烃 2-9 后的探针 2-4 的氮甲基氢的峰（不管是峰 a 还是峰 a'）均为单峰，可见插入杯芳烃 2-9 的氮甲基除了受杯芳烃 2-9 的苯环的屏蔽作用外，未发现其它影响，如不同核的质子间空间偶合作用。说明很可能只有一个探针分子插到一个杯芳烃空腔中，即两者的包结计量比为 1:1。其实，要使两个或两个以上的探针的带正电荷端的氮甲基插到同一个杯芳烃空腔中，必然会有电性排斥作用，所以这种情况也是不太可能的。

同时，比较同一比例的探针与杯的混合物在混合后的不同时间的 ^1H NMR（图 2.16~2.19），发现氮甲基的两个峰面积比例有所变化。在 1:4 的探针与杯的混合物中，刚混合后的 ^1H NMR（图 2.16）中没出现高场氮甲基峰 a'；但该混合物放置四天后的 ^1H NMR（图 2.17）出现了高场氮甲基峰 a'。在 1:10.5 的探针与杯的混合物中，刚混合后的 ^1H NMR（图 2.18）中，低场的氮甲基峰 a 面积与高场的氮甲基峰 a' 面积比为 1:2.33；该混合物放置七天后的 ^1H NMR（图 2.19）中，低场的氮甲基峰 a 面积与高场的氮甲基峰 a' 面积比变为 1:2.57。这说明了探针与杯混合后，两者的包结作用需要一段时间才能达到平衡。

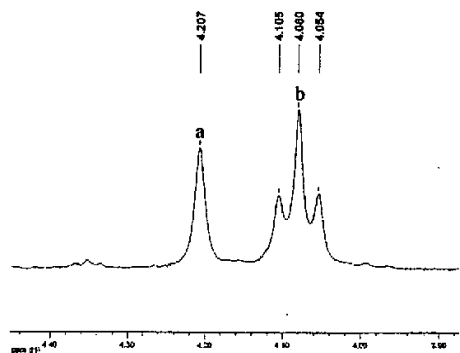


图 2.16 1:4 的探针 2-4 与杯 2-9 刚混合后

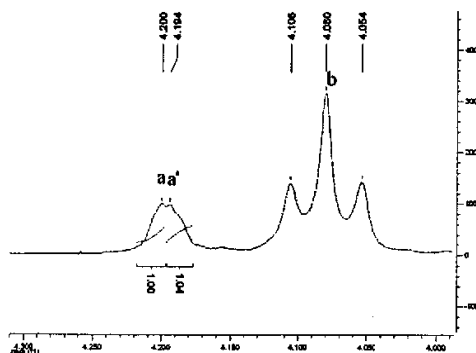


图 2.17 1:4 的探针 2-4 与杯 2-9 混合四天后的

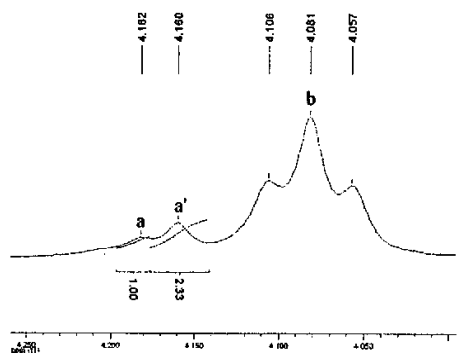


图 2.18 1:10.5 的探针 2-4 与杯 2-9 刚混合后

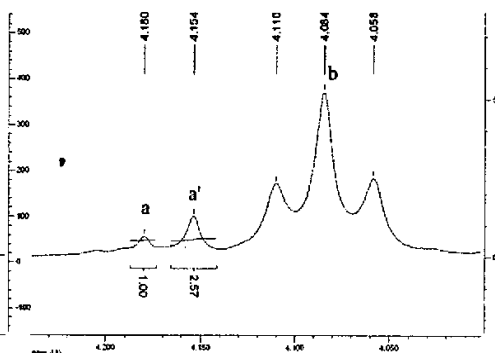


图 2.19 1:10.5 的探针 2-4 与杯 2-9 混合七天后的

综上所述, 新型芪吡啶盐探针 **2-4** 是以氮甲基端伸进间苯二酚杯[4]芳烃 **2-9** 空腔的, 两者的包结计量比为 1:1; 该包结过程并不马上完成, 而是一个需要一定时间的过程。

2.3.2 化合物 **2-4** 的荧光性

为了考查新合成的芪吡啶盐 **2-4** 是否具有荧光性及比较其与另外两种吡啶盐 (**2-5** 和 **2-1**) 的荧光性质, 以这三个化合物相应的紫外最大吸收波长为激发波长 (**2-4**: 397nm, **2-5**: 355nm, **2-1**: 430nm), 测试了它们在碱性甲醇(0.01mol/L KOH/CH₃OH)中的两种浓度 (1.0×10^{-4} mol/L 和 2.0×10^{-6} mol/L) 时的荧光强度以及在中性水溶液中 (PH=7.00 的磷酸钠盐缓冲液) 低浓度 (2.0×10^{-7} mol/L) 时的荧光强度 (表 2.1、图 2.20、图 2.21 和图 2.22)。

三种化合物的荧光光谱中, 550nm 附近的发射峰为探针 **2-4** 的特征峰, 500nm 附近的反射峰为探针 **2-5** 的特征峰, 570nm 附近的反射峰为探针 **2-1** 的特征峰。对比三种化合物的荧光光谱, 可以发现, 在碱性甲醇溶液中, 三种探针的荧光光谱均有较好的峰型。但在中性水溶液中, 化合物 **2-4** 的荧光光谱峰更尖锐, 这样

的峰型更便于观察其在荧光淬灭和重生实验中的荧光变化情况。且在相同条件下，中性水溶液中的化合物 **2-4** 比其余两化合物具有更强的荧光强度，说明化合物 **2-4** 更适合于在中性水溶液中作为荧光探针使用。

表 2.1 三种吡啶盐在三种条件下的特征峰荧光强度

溶剂	浓度	狭缝宽度	三探针的荧光特征峰强度		
	(mol/L)	(EX/EM)	$I_{2-4}(550\text{nm})$	$I_{2-5}(500\text{nm})$	$I_{2-1}(570\text{nm})$
碱性甲醇	1.0×10^{-4}	3 nm/3 nm	140.816	276.116	341.962
	2.0×10^{-6}	5 nm/5 nm	122.446	272.192	297.287
中性水	2.0×10^{-7}	10 nm/10nm	494.265	284.362	126.281

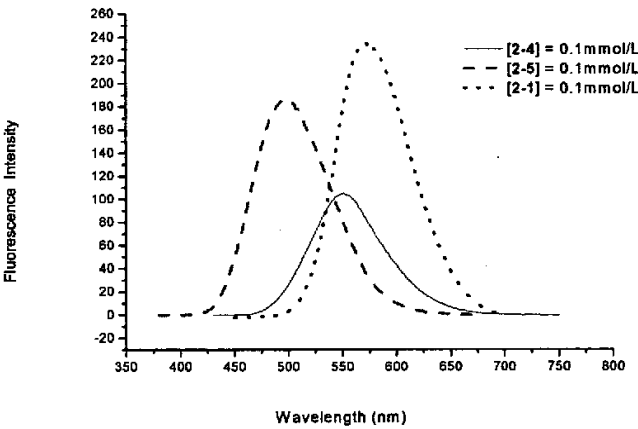


图 2.20 三吡啶盐 ($1.0\times 10^{-4}\text{mol/L}$) 在 $0.01\text{mol/L KOH/CH}_3\text{OH}$ 中的荧光光谱

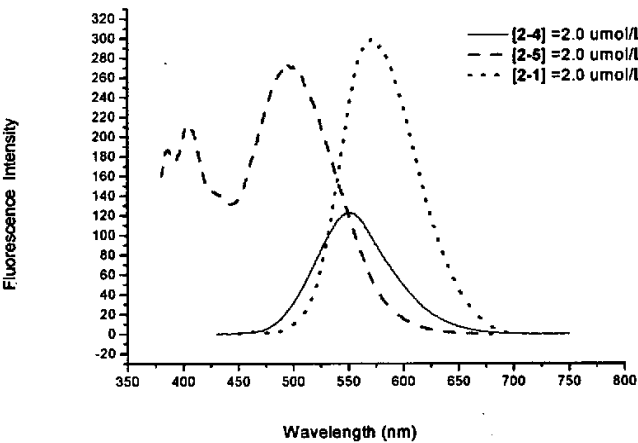


图 2.21 三吡啶盐 ($2.0\times 10^{-6}\text{mol/L}$) 在 $0.01\text{mol/L KOH/CH}_3\text{OH}$ 中的荧光光谱

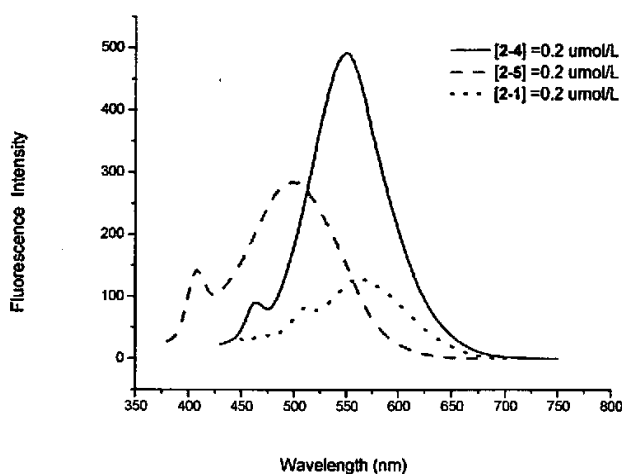


图 2.22 三吡啶盐 ($2.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$) 在中性水溶液中的荧光光谱

2.3.3 苊吡啶盐 2-4 对间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 的解离常数 K_d

由于核磁滴定法无法检测结合稳定常数大于 $10^4 (\text{mol/L})^{-1}$ 的包结作用，而杯芳烃 2-9 对吡啶盐及季铵阳离子的包结常数往往大于 $10^4 (\text{mol/L})^{-1}$ ^[5]，所以不能用核磁滴定法检测杯芳烃 2-9 对苊探针 2-4 的包结常数，或两者包结物的解离常数 K_d 。荧光检测法的灵敏度较高，可进行较低浓度的检测。作为吡啶盐的衍生物，苊吡啶盐 2-4 具有较好的荧光性能，而且可望在碱性甲醇^[5]或中性水溶液^[7]中被杯芳烃 2-9 包结而淬灭，从而使之能作为荧光探针应用于具有灵敏度较高，可进行较低浓度检测的荧光光谱检测法。据体系的荧光变化量，可以定量计算出杯芳烃 2-9 与苊探针 2-4 的复合物的解离常数 K_d 。

2.3.3.1 荧光淬灭实验的理论公式和测试方法

根据文献^[7]可知杯芳烃与探针 1:1 结合所得复合物的解离常数 K_d 与总浓度的关系式如下：

$$I = I_0 + \frac{(I_\infty - I_0)}{2[P]_0} \{ ([R]_0 + [P]_0 + K_d) - (\sqrt{([R]_0 + [P]_0 + K_d)^2 - 4 \times [R]_0 \times [P]_0}) \} \quad 2.1$$

式 2.1 就是对荧光淬灭实验的数据进行曲线拟合的公式。其中 I 为杯芳烃与探针在一定浓度比时的荧光强度， I_0 为纯探针的荧光强度， I_∞ 为杯芳烃与探针 1:1

结合所得包合物的荧光强度理论值, $[P]_0$ 为探针的总浓度, $[R]_0$ 为杯芳烃的总浓度。

固定探针浓度的情况下加入不同浓度的杯芳烃 **2-9**, 测定相应的荧光淬灭光谱。对荧光淬灭光谱的特征峰数据用公式 2.1 进行非线性拟合可得到 I_0 、 I_∞ 和 K_d 。

2.3.3.2 两种条件下杯芳烃 **2-9** 对三种探针的荧光淬灭情况

根据上述测试方法和拟合公式^[5, 7], 利用荧光光谱法分别测试得到杯芳烃 **2-9** 三种探针 **2-4**、**2-5** 和 **2-1** 在两种条件下的荧光淬灭光谱, 并由荧光淬灭公式拟合得到杯芳烃 **2-9** 对三种探针的解离常数。

第一种条件为 0.01mol/L KOH/CH₃OH 溶液中, 保持探针浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 的情况下, 不断增加杯芳烃 **2-9** 的量以淬灭探针的荧光。

在探针 **2-4** 的荧光淬灭实验中, 探针 **2-4** 特征发射峰 (550nm 附近) 的荧光强度随着杯芳烃 **2-9** 的不断增加而减少 (图 2.23), 表明体系中的探针 **2-4** 不断被包结到杯芳烃空腔中。荧光淬灭光谱的特征峰 (550nm 处) 的荧光强度随杯芳烃浓度变化的变化值列于表 2.2 中, 根据式 2.1 进行非线性拟合见图 2.24。拟合得到新合成的探针 **2-4** 与杯芳烃的解离常数 $K_d = (6.982 \pm 3.371) \times 10^{-6}$ mol/L, 相关系数 $R^2 = 0.98945$ 。

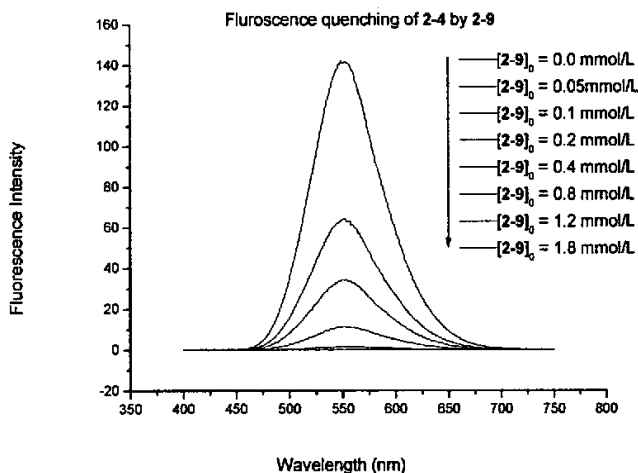


图 2.23 探针 **2-4** (1.0×10^{-4} mol/L) 的荧光被杯芳烃 **2-9** 淬灭光谱

表 2.2 探针 2-4 的荧光被杯芳烃 2-9 淬灭数据

[2-9] ₀ (mmol/L)	[2-9] ₀ / [2-4] ₀	I (550nm)
0.0	0	140.816
0.05	0.5	63.635
0.1	1.0	34.091
0.2	2.0	11.337
0.4	4.0	1.167
0.8	8.0	0.161
1.2	12.0	0.008
1.8	18.0	0.000

注：0.01mol/L KOH/MeOH 溶剂，室温，狭缝宽度：EX:3.0nm/EM:3.0nm，激发波长：397nm。

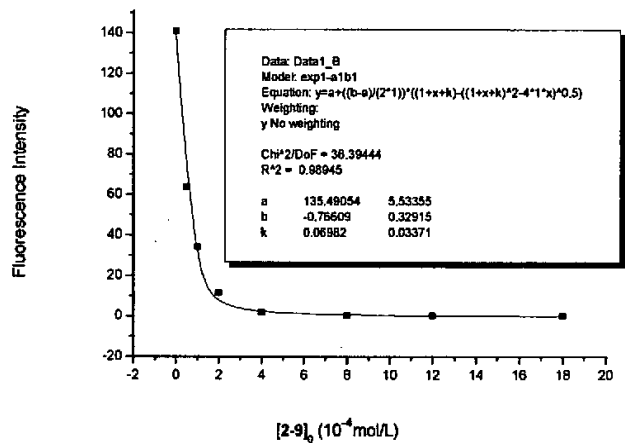


图 2.24 探针 2-4 的荧光被杯芳烃 2-9 淬灭的数据拟合图

其余两种探针 2-5 和 2-1 在该条件下被杯芳烃 2-9 包结识别的荧光淬灭实验同样用上述方法研究，其荧光淬灭谱图及相应的数据拟合结果见附录二（附图 2.1 和 2.2，附表 2.1 和 2.2）。所得三种探针在 0.01mol/L KOH/MeOH 溶液中，浓度为 1.0×10⁻⁴mol/L 条件下与杯芳烃 2-9 的解离常数对比见 2.3.3.3 节的表 2.4。

第二种条件为 pH 值等于 7 的磷酸钠盐缓冲溶液中，保持探针的浓度为 2.0×10⁻⁷mol/L 的情况下，不断增加杯芳烃 2-9 的量以淬灭探针的荧光。

在探针 2-4 的荧光淬灭实验中，探针 2-4 特征发射峰（550nm 附近）的荧光

强度随着杯芳烃 **2-9** 的不断增加而减少（图 2.25），表明体系中的探针 **2-4** 不断被包结到杯芳烃空腔中。荧光淬灭光谱的特征峰（550nm 处）的荧光强度列于表 2.3 中，根据拟合公式 2.1 进行非线性拟合见图 2.26。拟合得到新合成的探针 **2-4** 与杯芳烃的离解常数 $K_d = (3.0756 \pm 0.9849) \times 10^{-8} \text{mol/L}$ ，相关系数 $R^2 = 0.99146$ 。

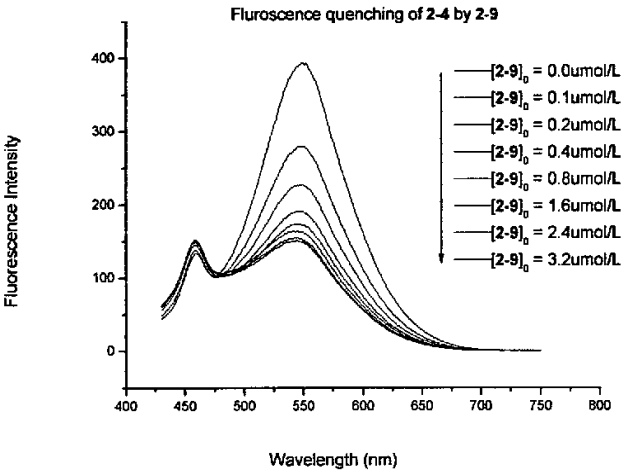


图 2.25 探针 **2-4** 的荧光被杯芳烃 **2-9** 淬灭光谱

表 2.3 探针 **2-4** 的荧光被杯芳烃 **2-9** 淬灭数据

$[2-9]_0 (\mu\text{mol/L})$	$[2-9]_0 / [2-4]_0$	$I (550\text{nm})$
0.0	0	392.219
0.1	0.5	279.823
0.2	1.0	227.136
0.4	2.0	189.71
0.8	4.0	170.981
1.60	8.0	162.261
2.4	12.0	150.853
3.2	16.0	149.204

注：pH=7.00 磷酸钠缓冲液溶剂，室温，狭缝宽度：EX:10.0nm/EM:10.0nm，激发波长：397nm

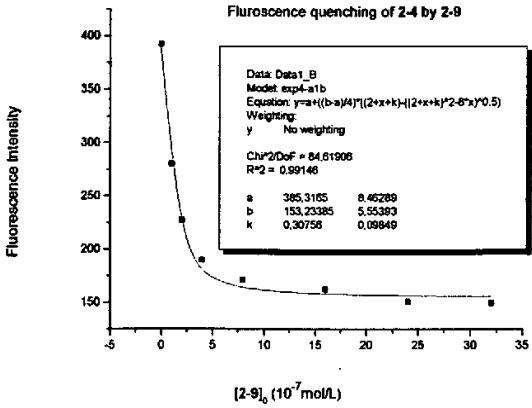


图 2.26 探针 2-4 的荧光被杯芳烃 2-9 淬灭的数据拟合

其余两种探针 2-5 和 2-1 在该条件下被杯芳烃 2-9 包结识别的荧光淬灭实验同样用上述方法研究，其荧光淬灭谱图及相应的数据拟合结果见附录二（附图 2.3 和 2.4，附表 2.3 和 2.4）。所得三种探针在中性水溶液中，浓度为 2.0×10^{-7} mol/L 条件下与杯芳烃 2-9 的解离常数见 2.3.3.4 节的表 2.5。

对比三种探针在两种条件下的荧光淬灭效率曲线图（图 2.27 和图 2.28），可以发现，三种探针的荧光在碱性甲醇溶液中均能被杯芳烃 2-9 较好的淬灭（几乎都 100% 被淬灭），性能上无明显差异（图 2.27）。但是在中性水溶液中（图 2.28），可以发现，当杯芳烃的量加至 3.2×10^{-6} mol/L 时，探针 2-4 的荧光能较好的被杯芳烃 2-9 淬灭，荧光变化量最大（淬灭量为 61.96%），而探针 2-5 被淬灭的荧光变化量次之（淬灭量为 59.15%），探针 2-1 被淬灭的荧光变化量最差（淬灭量为 36.90%）。由此可见，作为在中性水溶液中进行荧光检测法的荧光探针，芪吡啶盐探针 2-4 具有更好的淬灭效率。

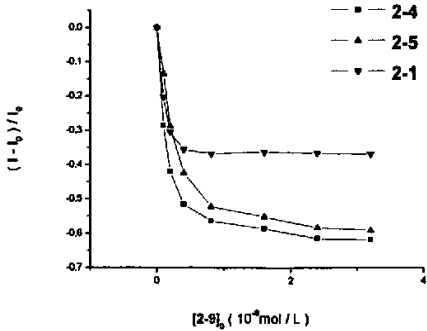
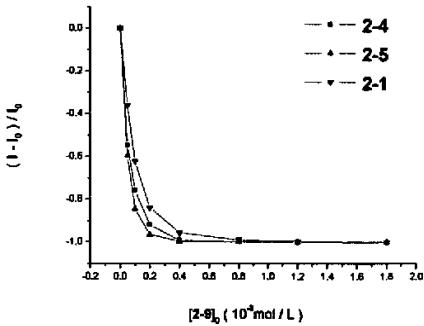


图 2.27 三探针的荧光淬灭曲线（碱性甲醇） 图 2.28 三探针的荧光淬灭曲线（中性水）

2.3.3.3 两种条件下杯芳烃 2-9 与三种探针的解离常数 K_d 分析

三种探针在两种条件下与杯芳烃的解离常数 K_d 列于表 2.4 中。

表 2.4 两种条件下三探针与杯芳烃 2-9 的解离常数

	探针 2-4	探针 2-5	探针 2-1
碱性甲醇 (单位: 10^{-6} mol/L)	6.982±3.371	2.208±1.627	24.669±1.266
中性水 (单位: 10^{-8} mol/L)	3.0756±0.9849	11.9534±1.6419	0.6064±0.3164

对比三种探针与杯芳烃 2-9 的解离常数 (表 2.4), 可以发现三种探针解离常数有所不同, 说明探针的芳香烃部分结构对于探针与杯芳烃的结合强度有一定影响, 但是无明显变化规律。

各探针在碱性甲醇溶液中以及在中性水溶液也不相同。相比较而言, 在中性水溶液中均具有更小的解离常数, 这表明杯芳烃的杯口羟基的解离情况对吡啶盐类探针与杯芳烃的包结情况有影响: 碱性条件下, 羟基部分解离, 季铵的正电荷中心 N^+ 更靠近杯口, 这种结合受到溶液极性和溶剂化作用的影响; 而在中性条件下, 杯口羟基没有解离, 这时吡啶盐类探针与杯芳烃主要依靠阳离子- π 作用和疏水作用, 季铵的正电荷中心 N^+ 将更深入杯空腔, 同时疏水作用使之与杯芳烃主体具有更强的包结作用。

此外, 探针 2-1 在碱性甲醇中与杯芳烃 2-9 的解离常数与文献用核磁共振方法测得的值 (4.35×10^{-6} mol/L) ^[5] 接近, 说明这两种方法是可比的。

2.3.4 利用新型苊吡啶盐探针 2-4 的荧光竞争法研究间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 对氯化胆碱的识别能力

为了考查所合成的新化合物—苊吡啶盐 2-4 是否可作为荧光探针用于荧光竞争法检测杯芳烃对季铵阳离子的识别能力, 我们选择了杯芳烃 2-9 为主体, 生物体内大量存在的氯化胆碱 ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$) 为客体, 在碱性甲醇溶液和中性水溶液两种条件下, 进行检测。根据苊吡啶盐 2-4 的荧光再生情况, 利用荧光再生的理论公式, 便可定量计算出杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的包结常数 K_a 。

2.3.4.1 荧光再生的理论公式与测试方法

如果主体化合物与客体分子、主体化合物与荧光探针均以 1:1 的比例包结，据文献^[7]报道，主体化合物 **R**、客体分子 **A** 和荧光探针 **P** 三者的浓度在荧光竞争法过程中，与体系的荧光强度 I 、主体化合物与荧光探针的解离常数 K_d 和主体化合物对客体分子的包结常数 K_a 之间，有如下关系：

$$[G]_0 = \left\{ \frac{I_\infty - I}{K_a \times K_d \times (I - I_0)} + 1 \right\} \times \left([R]_0 - K_d \times \frac{I - I_0}{I_\infty - I} - [P]_0 \times \frac{I - I_0}{I_\infty - I_0} \right) \quad 2.2$$

式 2.2 就是对荧光再生实验的数据进行曲线拟合的公式。其中 $[G]_0$ 为加入的客体总浓度， $[P]_0$ 为探针总浓度， $[R]_0$ 为受体总浓度， I_0 为纯探针的荧光强度， I_∞ 为杯芳烃与探针 1:1 结合所得包合物的荧光强度理论值， I 为体系总荧光强度， K_d 为主体化合物与探针的解离常数， K_a 为主体化合物对客体分子的包结常数。

在固定探针与主体化合物比例和浓度的情况下加入客体的溶液，测试相应的荧光再生光谱。对荧光再生光谱的特征峰数据用公式 2.2 进行非线性拟合可得到 I_0 、 I_∞ 和 K_a 。

2.3.4.2 两种条件下氯化胆碱使杯芳烃—探针体系的荧光再生情况

参考文献^[5,7]报道，我们分别用化合物 **2-4**、**2-5** 和 **2-1** 作为荧光探针，测试两种条件下氯化胆碱使杯芳烃 **2-9**—探针体系的荧光再生情况，并通过对荧光再生数据的拟合得到杯芳烃 **2-9** 对氯化胆碱的包结常数 K_a 。

第一种条件为 0.01mol/L KOH/CH₃OH 溶液中，保持探针浓度为 1×10^{-4} mol/L、杯芳烃 **2-9** 浓度为 2.0×10^{-4} mol/L 的情况下，配置一系列依次增加氯化胆碱量的混合液进行荧光测试。在利用芪吡啶盐 **2-4** 作为荧光探针的荧光竞争实验中，探针 **2-4** 特征发射峰（550nm 附近）的荧光强度随着氯化胆碱量的不断增加而增强（图 2.29、表 2.6），表明体系中的探针 **2-4** 不断被氯化胆碱竞争置换出杯芳烃空腔。荧光再生光谱的特征峰（550nm 处）的荧光强度值列于表 2.5，用式 2.2 进行非线性拟合的曲线见图 2.30。拟合得到该条件下杯芳烃 **2-9** 对氯化胆碱的包结常数 $K_a = (3.35 \pm 0.89) \times 10^6 (\text{mol/L})^{-1}$ ，相关系数 $R^2 = 0.99034$ 。

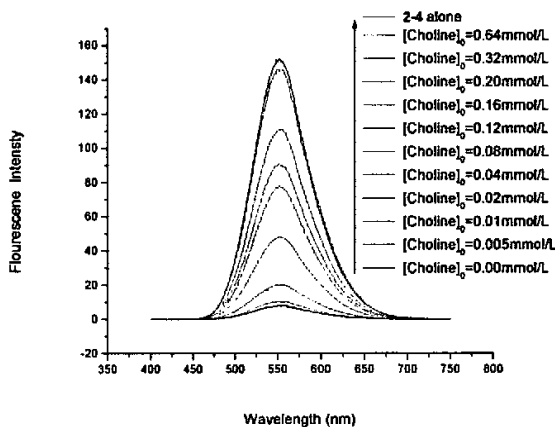


图 2.29 化合物 2-4 的荧光再生光谱

表 2.5 探针 2-4 的荧光再生数据

[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (550nm)	[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (550nm)
0.00	7.281	0.12	76.464
0.005	7.980	0.16	89.938
0.01	8.633	0.20	110.149
0.02	10.236	0.32	145.403
0.04	19.932	0.64	152.061
0.08	47.612	/	/

注：0.01mol/L KOH/MeOH 溶剂，室温，狭缝宽度：EX:3.0nm/EM:3.0nm，激发波长：397.0nm

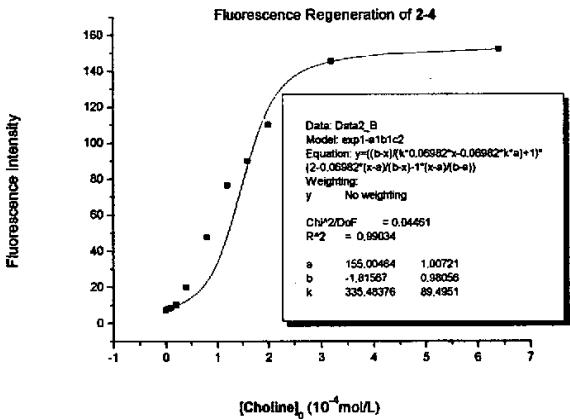


图 2.30 化合物 2-4 的荧光再生数据拟合

其余两种化合物 **2-5** 和 **2-1** 作为荧光探针，用于在该条件下杯芳烃 **2-9** 对氯化胆碱的荧光再生实验，同样用上述方法研究。其荧光再生谱图及相应的数据拟合结果见附录二（附图 **2.5** 和 **2.6**，附表 **2.5** 和 **2.6**）。在 0.01mol/L KOH/MeOH 溶液中，利用三种化合物(**2-4**、**2-5** 和 **2-1**)为探针所测得杯芳烃 **2-9** 对氯化胆碱的包结常数见 **2.3.4.3** 节的表 **2.7**。

第二种条件为 pH 值等于 7 的磷酸盐缓冲溶液中，保持探针浓度为 2×10^{-7} mol/L、杯芳烃 **2-9** 浓度为 8.0×10^{-7} mol/L 的情况下，配置一系列依次增加氯化胆碱量的混合液进行荧光测试。在利用苈吡啶盐 **2-4** 作为荧光探针的荧光竞争实验中，探针 **2-4** 特征发射峰（550nm 附近）的荧光强度随着氯化胆碱量的不断增加而增强（图 **2.32**、表 **2.6**），表明体系中的探针 **2-4** 不断被氯化胆碱竞争顶出杯芳烃空腔。荧光再生光谱的特征峰（550nm 处）的荧光强度值列于表 **2.6**，用式 **2.2** 进行非线性拟合的曲线见图 **2.33**。拟合得到该条件下杯芳烃 **2-9** 对氯化胆碱的包结常数 $K_a=(8.13\pm4.27)\times10^5(\text{mol/L})^{-1}$ ，相关系数 $R^2=0.99519$ 。

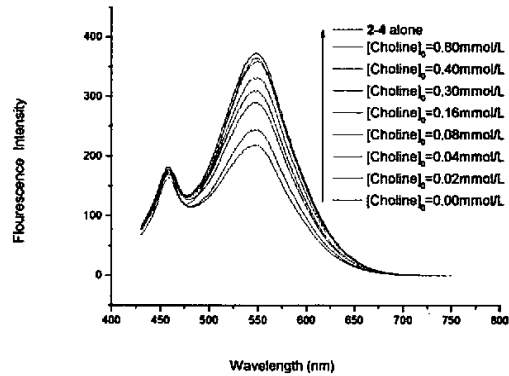


图 2.32 化合物 **2-4** (2.0×10^{-7} mol/L) 的荧光再生图

表 2.6 探针 **2-4** 的荧光再生数据

[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (550nm)	[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (550nm)
0.00	218.544	0.16	331.827
0.02	245.816	0.30	360.016
0.04	287.965	0.40	363.340
0.08	308.931	0.80	372.662

注：pH=7.00 磷酸钠缓冲液溶剂，室温，狭缝宽度：EX:10.0nm/EM:10.0nm，激发波长：397.0nm

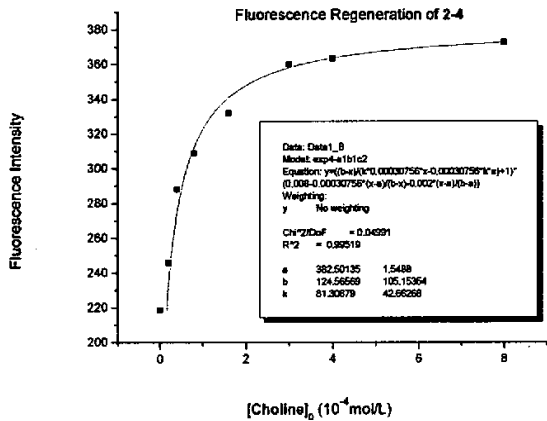


图 2.33 化合物 2-4 的荧光再生数据拟合

其余两种化合物 2-5 和 2-1 作为荧光探针，用于在该条件下杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的荧光再生实验，同样用上述方法研究。其荧光再生谱图及相应的数据拟合结果见附录 2（附图 2.7 和 2.8，附表 2.7 和 2.8）。在中性水溶液中，三种探针 (2-4、2-5 和 2-1) 测得杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的包结常数见 2.3.4.3 节的表 2.9。

从这三种探针在所述两种条件下的荧光再生效率曲线图，我们发现：在这两种条件下，当胆碱的量加至 $6.4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 时，探针的荧光均基本可完全恢复初始值，探针 2-4 的再生效率略佳（图 2.34、图 2.35）。

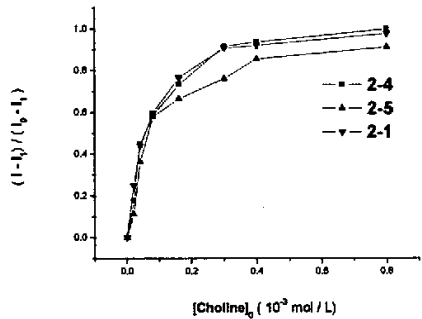
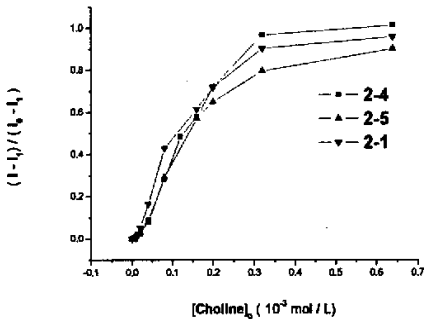


图 2.34 三探针的荧光再生效率曲线(碱性甲醇) 图 2.35 三探针的荧光再生效率曲线(中性水)

在中性水溶液中，苊吡啶盐 2-4 相对其余两探针作为荧光探针显示出较尖锐的荧光特征峰（图 2.36），说明其更适合在水溶液中使用，这对于与具有高选择识别能力的人工受体结合，开发在模拟生理条件对季铵阳离子的快捷简便的荧光检测体系有较好的参考价值。

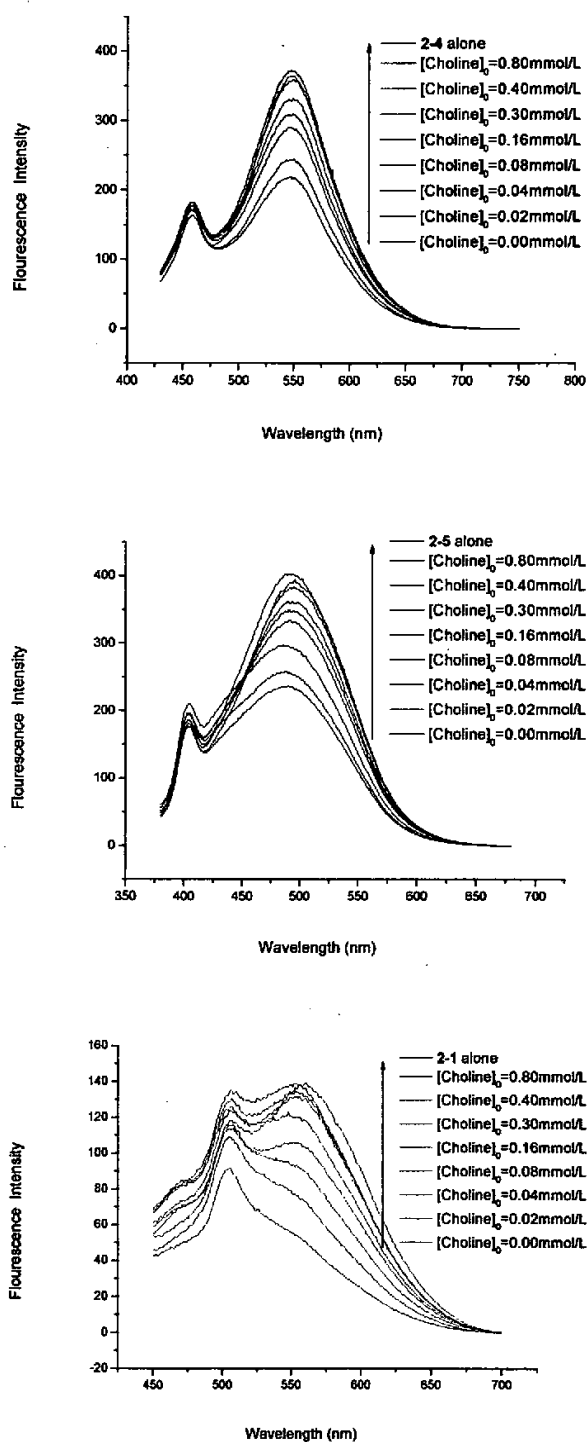


图 2.36 三探针在中性水溶液中的荧光再生光谱比较

2.3.4.3 三种探针检测的两种条件下杯芳烃 2-9 对胆碱的包结常数 K_a 分析

在两种条件下用三种探针分别用于荧光竞争法检测所得的杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的包结常数 K_a 列于表 2.7 中。

表 2.7 两种条件下杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的包结常数 K_a ($10^5(\text{mol/L})^{-1}$)

	探针 2-4	探针 2-5	探针 2-1
碱性甲醇	33.5±8.9	21.9±2.6	8.7±1.1
中性水	8.13±4.27	1.29±0.80	44.9±25.9

对比两种条件下测得的包结常数,发现对于在这两种溶液中都有较好水溶性的氯化胆碱而言,碱性条件下的包结常数普遍比在中性条件下大。可见在碱性条件下,部分酚羟基离解了的杯芳烃由于增强了它对胆碱阳离子的静电作用,比在没有酚羟基离解的情况下对胆碱阳离子具有更强的包结能力。这与杯芳烃 2-9 对吡啶盐探针在水溶液中比在碱性甲醇中具有更强的包结能力的规律相反。由此可说明,对于有较好水溶性的氯化胆碱而言,疏水作用的影响并未体现在杯芳烃 2-9 对其的包结作用中,而静电作用却有较明显的体现。

同种条件下使用三种探针测得的杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的包结常数有一定的差异。说明在这两种条件下,杯芳烃对胆碱的包结能力大小可能还受体系里其它离子(如探针阳离子)的影响。从而导致在同一种溶液、同样的浓度等的同等条件下,用不同的探针检测,得到同一杯芳烃对同样的氯化胆碱有不同的包结常数。也可能由于胆碱对不同的探针的荧光强度有不同的影响,从而导致检测产生误差,这说明荧光竞争法的使用条件有待进一步探讨和完善。

2.4 实验部分

2.4.1 仪器与试剂

核磁共振波谱仪: American Varian Mercury-Plus 300(300 MHz) (氘代氯仿、氘代二甲基亚砷作溶剂, TMS 为内标);

液相色谱-质谱联用仪: Japan Shimadzu ESI-LCMS-2010A;

荧光分光光度计: Japan Shimadzu RF-5301PC Spectrofluoro Photometer;

实验所用试剂，均为市售化学纯或分析纯，除特别说明外，未加处理直接使用。

2.4.2 化合物 2-4、2-5 和 2-1 的合成

2.4.2.1 碘化 1,4-二甲基吡啶盐 (2-6)^[12]

混合 4-甲基吡啶(100 μ L, 1.0 mmol)、碘甲烷(186 μ L, 3.0 mmol)和 1.0 mL 甲醇, 70℃下回流搅拌 3 小时以上。将反应液减压旋干可得淡黄色固体(过量的碘甲烷和未反应的原料被浓缩除去, 产物单一) 化合物 2-6 (230 mg, 97.9%)。

2.4.2.2 碘化反-4-(1-苾乙烯)-1-甲基吡啶盐(2-1)

在 1-苾甲醛(50 mg, 0.2 mmol)的二氯甲烷溶液(0.2 mL)中滴加入碘化 1,4-二甲基吡啶(50 mg, 0.2 mmol)和六氢吡啶(100 μ L, 1.0 mmol)的甲醇溶液 1.0 mL, 室温下搅拌 3 小时以上可见大量橙红色沉淀。将沉淀过滤, 依次用少量甲醇、二氯甲烷洗涤, 室温晾干得目标产物纯品。滤液敞口放置过夜, 待其大量挥发可见有大量橙红色结晶物, 将其过滤, 依次用甲醇、二氯甲烷洗涤, 得目标产物纯品。两者合并, 晾干得化合物 2-1 (62 mg, 68.97%)。

化合物 2-1: $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz) (附图 1.1) δ : 4.293 (s, 3H; N-CH₃), 7.824 (d, 1H; CH=CH), 8.104~8.957 (m, 9H; ArH), 8.481 (d, 2H; pyridine), 8.903 (d, 2H; pyridine), 9.079 (d, 1H; CH=CH); Positive ESI-MS (附图 1.2): m/z 320 ($[\text{M}-\text{I}]^+$); m.p. > 300 °C.

2.4.2.3 苕基三苯基氯化磷(2-7)^[13]

混合三苯基磷(258 mg, 1.0 mmol)、苕基氯(126.5 μ L, 1.0 mmol)和 1.0 mL 氯仿。反应混合物于 70℃回流 3 小时。停止反应, 冷却后加入 6.5 mL 乙醚使季磷盐沉淀完全, 抽滤, 并用少量乙醚洗涤, 晾干, 得化合物 2-7 (286 mg, 75.0%)。

化合物 2-7: Positive ESI-MS (附图 1.3): m/z 353 ($[\text{M}-\text{Cl}]^+$).

2.4.2.4 反-4-苕乙烯苯甲醛(2-8)

混合苕基三苯基氯化磷(470 mg, 1.2 mmol)、对苯二甲醛 (327 mg, 2.4 mmol) 和 2.0 mL 二氯甲烷, 剧烈搅拌下慢慢滴加入 2.0 mL 50% 氢氧化钠水溶液, 然后在室温下继续搅拌 30 分钟。反应液用二氯甲烷萃取 (2.0 mL $\times$ 3), 合并有机层,

有机层用无水硫酸钠干燥后浓缩。以环己烷-乙酸乙酯(15:1)为洗脱剂,用 100~200 目的硅胶进行柱层析分离,得化合物 **2-8** (80 mg, 32.0%)。

化合物 **2-8**: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz, TMS int) (附图 1.4) δ : 7.11(d, 1H; CH=CH), 7.23(d, 1H; CH=CH), 7.29(d, 1H; ArH), 7.36(t, 2H; ArH), 7.51(d, 2H; ArH), 7.62(d, 2H; ArH), 7.84(d, 2H; ArH), 9.95(s, 1H; ArCHO); m. p. =110-112 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2.4 碘化反-4-(p-苾乙烯)-1-甲基吡啶盐(**2-4**)

在溶解了反-4-苯乙烯苯甲醛(63 mg, 0.3 mmol)的二氯甲烷溶液(1.5 mL)中滴加入溶解了碘化 1,4-二甲基吡啶(71 mg, 0.3 mmol)和六氢吡啶(150 μL , 1.5 mmol)的甲醇溶液 1.0 mL, 室温下搅拌 5 小时以上可见大量黄色沉淀。将反应液浓缩后, 先用少量甲醇洗涤, 再用少量二氯甲烷洗涤、晾干得化合物 **2-4** (46 mg, 36.8%)。

化合物 **2-4**: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz, TMS int) (附图 1.5) δ : 4.245 (s, 3H; N-CH₃), 7.264~7.415 (m, 5H; ArH), 7.516 (d, 1H; CH=CH), 7.611 (s, 1H; CH=CH), 7.636 (s, 1H; CH=CH), 7.717 (d, 2H; ArH), 7.757 (d, 2H; ArH), 7.997 (d, 1H; CH=CH), 8.195 (d, 2H; pyridine), 8.840 (d, 2H; pyridine); Positive ESI-MS (附图 1.6): m/z 298 ($[\text{M}-\text{I}]^+$); m. p. > 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2.5 碘化反-4-(2-萘乙烯)-1-甲基吡啶盐(**2-5**)^[21]

混合 2-萘甲醛(78 mg, 0.5 mmol)和碘化 1, 4-二甲基吡啶(126 mg, 0.5 mmol), 加入 1.5 mL 乙醇为溶剂, 滴加入六氢吡啶(150 μL , 1.5 mmol)的乙醇溶液 1.0 mL, 室温下搅拌 5 小时以上可见大量淡黄色沉淀。将反应液蒸发大部分, 沉淀增加, 再将反应液过滤。用少量乙醇洗涤, 可得淡黄绿色目标物粗品。粗品用甲醇重结晶, 得浅绿黄色结晶物, 过滤, 再依次用乙醇、甲醇洗涤, 晾干得化合物 **2-5** (72 mg, 38.6%)。

化合物 **2-5**: ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz, TMS int) (附图 1.7) δ : 4.265 (s, 3H; N-CH₃), 7.564 (t, 1H; ArH), 7.595 (t, 1H; ArH), 7.656 (d, 1H; CH=CH), 7.936~8.029 (m, 4H; ArH), 8.167 (d, 1H; CH=CH), 8.195 (s, 1H; ArH), 8.253 (d, 2H; pyridine), 8.867 (d, 2H; pyridine); Positive ESI-MS (附图 1.8): m/z 246($[\text{M}-\text{I}]^+$); m.p. =279-280 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.3 2,8,14,20-四乙基-4,6,10,12,16,18,22,24-八羟基[19.3.1.1^{3,7}.1^{9,13}.1^{15,19}] 环

二十八碳-1(25),3,5,7(28),9,11,13(27),15,17,19(26),21,23-十二烯 2-9 (简称间苯二酚杯[4]芳烃 2-9) 的合成^[7]

将间苯二酚 (4.40 g, 40 mmol) 和丙醛 (1.86 mL, 40mmol) 溶解于乙醇 (45 mL) 中, 在 0℃ 下加入浓盐酸 (1.0 mL), 然后加热回流反应 20 h。冷却至室温, 反应混合物经浓缩至粘稠状后, 在不断搅拌中加入到 200 mL 水中, 此时有大量的沉淀析出。过滤, 沉淀用大量的热水洗涤, 经真空干燥得到间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 (3.96 g, 66.7%)。

化合物 2-9: ¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz) (附图 1.9) δ: 0.796 (m, 12H; -CH₃), 2.109 (m, 8H; -CH₂-), 4.088 (t, 4H; -CH-), 6.141 (s, 4H; ArH), 7.224 (s, 4H; ArH), 8.917 (s, 8H; -OH); Positive ESI-MS (附图 1.10): m/z 599 ([M-H]⁺).

2.4.4 核磁滴定法检测碘化苊吡啶盐 2-4 与杯芳烃 2-9 的包结方式

室温下, 称取碘化苊吡啶盐 2-4 (2.1 mg, 0.005 mmol) 于核磁管中, 加入 0.50mL 氘代 DMSO 溶解, 得浓度为 10mmol/L 的测试液。称取间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 (33mg, 0.055mmol) 于核磁管中, 加入 0.55mL 氘代 DMSO 溶解, 得浓度为 100mmol/L 的测试液。室温下, 先分别测试碘化苊吡啶盐 2-4 和间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 的 ¹H NMR, 然后在碘化苊吡啶盐 2-4 的氘代 DMSO 溶液 (浓度为 10mmol/L) 中滴加间苯二酚杯[4]芳烃 2-9 的氘代 DMSO 溶液 (浓度为 100mmol/L), 使两者的摩尔比依次为: 2-4/2-9=1/2、1/4、1/6、1/8、1/10 和 1/10.5, 每次配好后摇匀, 作其混合物的 ¹H NMR。

其中, 配置 2-4/2-9=1/4 的混合物溶液并作了 ¹H NMR 后, 该混合物溶液放置 4 天后再作其 ¹H NMR; 配置 2-4/2-9=1/10.5 的混合物溶液并作了 ¹H NMR 后, 该混合物溶液放置 7 天后再作其 ¹H NMR。

2.4.5 三化合物(2-4、2-5 和 2-1)在三种条件下的荧光光谱检测

室温下, 分别配制浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 和 2.0×10^{-6} M 的三化合物(2-4、2-5 和 2-1)的 0.01mol/L KOH/CH₃OH 溶液, 和浓度为 2.0×10^{-7} mol/L 的三化合物(2-4、2-5 和 2-1)的 PH = 7.00 的磷酸钠盐缓冲水溶液。三化合物以不同的激发波长(2-4: 397 nm、2-5: 355 nm、2-1: 430 nm), 不同浓度下采用不同的狭缝宽度

($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$: Ex/Em=3nm/3nm、 $2.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$: Ex/Em=5nm/5nm、 $2.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$: Ex/Em=10nm/10nm), 测定其荧光光谱。荧光光谱见本章图 2.20~2.22。

2.4.6 碱性甲醇溶液中杯芳烃 2-9 对三种探针(2-4、2-5 和 2-1)的识别

室温下, 化合物 2-9 和三种探针(2-4、2-5 和 2-1) 分别用相同的 0.01 mol/L KOH/CH₃OH 溶液溶解。化合物 2-9 与探针 2-4 和 2-5 均以浓度比为 0、1:1、2:1、4:1、8:1、12:1 和 18:1 的比例混合, 与探针 2-1 以浓度比为 0、0.5:1、1:1、2:1、4:1、8:1、12:1 和 18:1 的比例混合。所有测试液中荧光探针的浓度均为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。含不同探针的测试液分别以相应的激发波长(2-4: 397nm、2-5: 355nm、2-1: 430nm), 狭缝宽度 Ex/Em=3nm/3nm, 测定其荧光光谱。谱图参见本章图 2.23 和附图 2.1 和 2.2。

2.4.7 中性水溶液中杯芳烃 2-9 对三种探针(2-4、2-5 和 2-1)的识别

室温下, 化合物 2-9 和三种探针(2-4、2-5 和 2-1) 分别用相同的 PH=7.00 的磷酸钠盐缓冲水溶液溶解。化合物 2-9 与探针 2-4 和 2-1 均以浓度比为 0、0.5:1、1:1、2:1、4:1、8:1、12:1 和 16:1 的比例混合, 与探针 2-5 以浓度比为 0、1:1、2:1、4:1、8:1、12:1 和 18:1 的比例混合。所有测试液中荧光探针的浓度均为 $2.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。含不同探针的测试液分别以相应的激发波长(2-4: 397 nm、2-5: 355 nm、2-1: 430 nm), 狭缝宽度 Ex/Em =10nm/10nm, 测定其荧光光谱。谱图参见本章图 2.25 和附图 2.3 和 2.4。

2.4.8 碱性甲醇溶液中应用三种探针(2-4、2-5 和 2-1)检测杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的识别能力

室温下, 化合物 2-9、三种探针(2-4、2-5 和 2-1) 和氯化胆碱分别用相同的 0.01 mol/L KOH/CH₃OH 溶液溶解, 并分别以浓度比为 2:1 的比例混合后, 加入不同量氯化胆碱的 0.01 mol/L KOH/CH₃OH 溶液, 配制系列杯芳烃浓度固定为 $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 、荧光探针浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 和不同氯化胆碱浓度的测试液。含不同探针的测试液分别以相应的激发波长(2-4: 397nm、2-5: 355nm、2-1:

430nm), 狭缝宽度 Ex/Em=3nm/3nm, 测定其荧光光谱。谱图参见本章图 2.29 和附图 2.5 和 2.6。

2.4.9 中性水溶液中应用三种探针(2-4、2-5 和 2-1)检测杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的识别能力

室温下, 化合物 2-9、三种探针(2-4、2-5 和 2-1) 和氯化胆碱分别用相同的 PH=7.00 的磷酸钠盐缓冲水溶液溶解, 并分别以浓度比为 4:1 的比例混合后, 加入不同量氯化胆碱溶液, 配制系列杯芳烃浓度固定为 8.0×10^{-7} mol/L、荧光探针浓度为 2.0×10^{-7} mol/L 和不同氯化胆碱浓度的测试液。含不同探针的测试液分别以相应的激发波长(2-4: 397nm、2-5: 355nm、2-1: 430nm), 狭缝宽度 Ex/Em = 10nm/10nm, 测定其荧光光谱。谱图参见本章图 2.32 和附图 2.7 和 2.8。

2.5 本章小结

1. 用碘甲烷和 4-甲基吡啶以几乎 100%的产率合成了三种探针的母体碘化 1,4-二甲基吡啶盐 2-6, 然后分别与通过 Wittig 反应合成的 4-苯乙烯苯甲醛(顺式或反式)、2-萘甲醛和 1-萘甲醛, 在六氢吡啶的催化下, 通过缩合脱水得到三种吡啶盐类荧光化合物 2-1、2-4 和 2-5。化合物 2-4 的总产率为 12.3%, 化合物 2-5 和 2-1 的产率分别 37.8%和 67.5%。已知物的产率相对于文献报道值均有所提高。三个探针及其合成中间体的结构均得到波谱数据证实。

2. 用核磁滴定法研究了杯芳烃 2-9 对新合成的化合物 2-4 的包结方式: 以吡啶盐的正离子进入杯空腔的阳离子- π 作用结合, 且确定了包结计量比为 1:1; 还用荧光光谱法比较了三种探针的荧光性能及其被杯芳烃 2-9 在两种不同的条件下的荧光淬灭情况, 可以认为新型探针 2-4 具有比正在使用的萘探针 2-1 更好的荧光性能和荧光淬灭量。

3. 将这三种化合物分别作为荧光探针应用于两种条件下杯芳烃 2-9 对氯化胆碱的荧光竞争检测中。结果显示, 化合物 2-4 相对于荧光化合物 2-5 和已报道的荧光探针 2-1, 具有更好的水溶性, 更适合作为生理条件下的荧光探针应用于

人工受体对生物体系内的季铵阳离子的识别检测。这些结果对于开发生理条件下的荧光检测手段和荧光分子器件均有很好的参考价值。

参考文献:

1. 刘育, 尤长城, 张衡益编著, *超分子化学—合成受体的分子识别与组装*, 天津: 南开大学出版社, **2001**.
2. Hof F., Trembleau L., Ullrich E. C., Rebek J., Acetylcholine Recognition by a Deep, Biomimetic Pocket, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 3150-3153.
3. 徐叙瑑, 苏勉曾编著, *发光学与发光材料*, 北京: 化学工业出版社, **2004**.
4. Kavarnos G. J., Turro N. J., Photosensitization by reversible electron transfer: theories, experimental evidence, and xamples, *Chem. Rev.*, **1986**, 86, 401-449.
5. Inouye M., Hashimoto K., Isagawa K., Nondestructive Detection of Acetylcholine in Protic Media: Artificial-Signaling Acetylcholine Receptors, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 5517-5518.
6. Koh K. N., Araki K., Ikeda A., Otsuka H., Shinkai S., Reinvestigation of Calixarene-Based Artificial-Signaling Acetylcholine Receptors Useful in Neutral Aqueous (Water/Methanol) Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 755-758.
7. (a)Tan S. D., Chen W. H., Satake A., Wang B., Xu Z. L., Kobuke Y., Tetracyanoresorcin-[4]arene as a pH Dependent Artificial Acetylcholine Receptor, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 2719-2721; (b)谭颂德, 中山大学2004届博士学位论文.
8. Hüseyin B., Werner M. N., Fluorescence Regeneration as a Signaling Principle for Choline and Carnitine Binding: A Refined Supramolecular Sensor System Based on a Fluorescent Azoalkane, *Adv. Funct. Mater.*, **2006**, 16, 237-242.
9. Jin T., A New Fluorometric Method for the Detection of the Neurotransmitter Acetylcholine in Water Using a Dansylcholine Complex with *p*-Sulfonated Calix[8]arene, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **2003**, 45, 195-201.
10. 孟凡青, 许东, 任诠, 袁多荣, 吕孟凯, 张光辉, 赵显, 王新强, 郭世义, 房昌水, 汪听, 陆祖宏, 崔一平, 吡啶盐二维电荷转移分子的设计、合成和超极化率的测定, *化学学报*, **2000**, 58, 384-389.

11. Seiji Shinkai, Osamu Manabe, et al, Synthesis and Inclusion Properties of "Neutral" Water-Soluble Calixenes, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1990**, *63*, 1272-1274.
12. Cavallito C. J., Yun H. S., Smith J. C., Foldes F. F., Choline Acetyl-transferase Inhibitors. Configurational and Electronic Features of Styrylpyridine Analogs, *J. Med. Chem.*, **1969**, *12*, 134-138.
13. 许遵乐, 刘汉标, 陆慧宁编著, *有机化学实验*, 广州: 中山大学出版社, **2000**.
14. Gray A. P., Platz R. D., Henderson T. R., Chang T. C. P., Kazuyuki I., Dretchent K. L., Approaches to Protection against Nerve Agent Poisoning. (Naphthylvinyl-1)-pyridine Derivatives as Potential Antidotes, *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 807-814.
15. Rosania G. R., Lee J. W., Ding L., Yoon H. S., Chang Y. T., Combinatorial Approach to Organelle-Targeted Fluorescent Library Based on the Styryl Scaffold, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1130-1131.
16. Huang M. H., Liang L. C., Amido Pincer Complexes of Palladium: Synthesis, Structure, and Catalytic Heck Reaction, *Organometallics*, **2004**, *23*, 2813-2816.
17. Yao Q. W., Kinney E. P., Yang Z., Ligand-Free Heck Reaction: Pd(OAc)₂ as an Active Catalyst Revisited, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 7528-7531.
18. Yao Q. W., Kinney E. P., Zheng C., Selenium-Ligated Palladium(II) Complexes as Highly Active Catalysts for Carbon-Carbon Coupling Reactions: The Heck Reaction, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 2997-2999.
19. Gu T., Ceroni P., Marconi G., Armaroli N., Nierengarten J. F., Synthesis and Electronic Properties of Covalent Assemblies of Oligophenylenevinylene Units Arising from a Calix[4]arene Core, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6432-6439.
20. Josep C., Josep F., Albert V., Reaction of Dialdehydes with Conventional and Polymer-supported Wittig Reagents, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry (1972-1999)*, **1979**, *1*, 1-6.
21. Chudak M., Juskowiak B., DNA Effect on the Photoisomerization of Naphthalenvinyl-Pyridinium Derivatives, *Polish Journal of Chemistry*, **2003**, *3*, 303-313.
22. Schneider H. J., Guttes D., Schneider U., Host-Guest Complexes with Water-Soluble Macrocyclic Polyphenolates Including Induced Fit and Simple Elements of a Proton Pump, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *100*, 6449-6454.

第三章 β -环糊精-间苯二酚杯[4]芳烃连接体的合成初探

3.1 前言

3.1.1 乙酰胆碱受体的研究进展

人们从酶与核酸的研究认识到生化系统巧妙的特异性, 开始设计和合成一些比较简单的分子来模拟天然化合物的性质。碱金属离子和季铵离子在生命体系中的信息传递等方面有着非常重要的生理作用。如乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)就是生物体内神经细胞中最丰富的神经传质之一, 通过与其相应受体的结合或解离使受体通道处于开放或关闭状态而达到信号传导的目的^[1]。研究表明乙酰胆碱参与认知、睡眠和觉醒、痛与镇痛等许多生理功能的调节, 老年痴呆症、有机磷农药中毒症、肌无力综合症、帕金森氏症等多种疾病均与体内的乙酰胆碱代谢异常有关。因此, 合成在生理条件下具有高选择识别性能的乙酰胆碱类化合物的人工受体, 不仅有助于阐明生物体内对乙酰胆碱的识别机制和发展乙酰胆碱的有效检测技术, 而且可以为乙酰胆碱配体所调控的人工乙酰胆碱受体通道的构筑提供新的模型, 并有助于开发高性能的乙酰胆碱生物传感器。

早在上世纪 80 年代, 就开始了季铵离子, 特别是乙酰胆碱人工受体的合成和应用研究。美国的 D. A. Dougherty^[2~9]的研究小组和法国的 J. -M. Lehn^[10~12]的研究小组研究了环番类大环化合物 3-1~5 (图 3.1) 对包括乙酰胆碱在内的季铵离子的识别行为, 发现在识别过程中, 芳香环与客体分子之间的阳离子- π 作用担当着重要作用, 而环番结构中带负电荷的羧基仅起次要作用。但这些环番化合物对乙酰胆碱的识别能力和选择性不高, 反而对具有较大空间体积的季铵离子如四丙基铵、四丁基铵、四戊基铵和金刚烷三甲基铵等的识别能力更强。

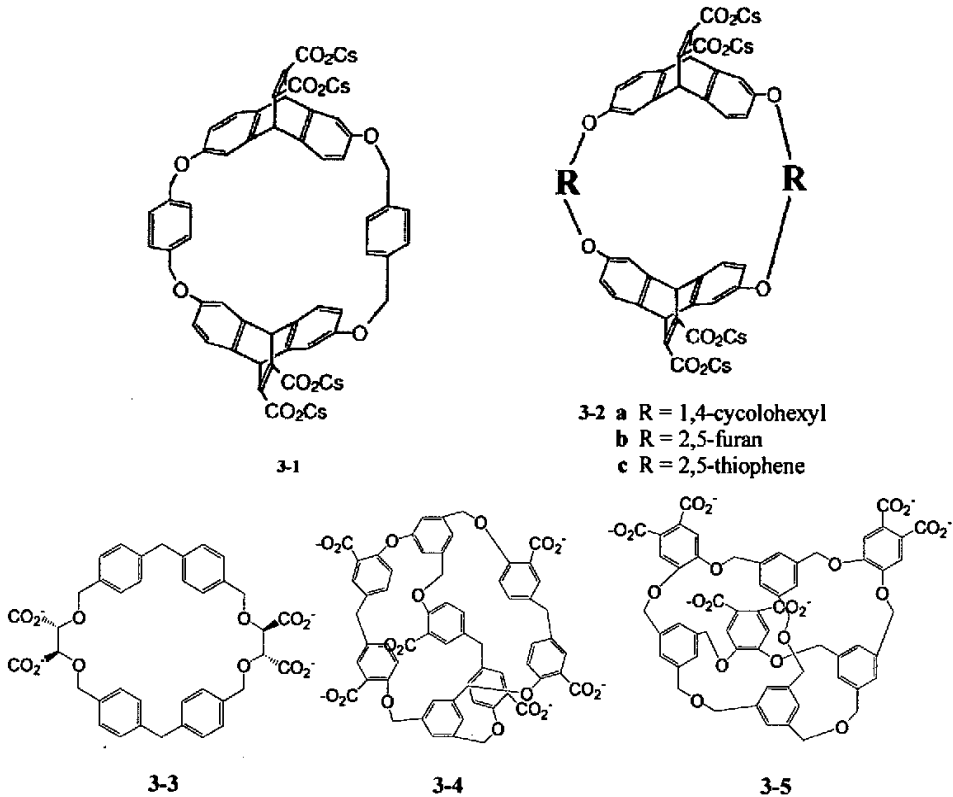


图 3.1 环番类大环化合物 3-1~5

受体结构的尺寸对识别季铵离子的能力也有关系。A. Collet 等^[13]发现人工受体 3-6a (图 3.2) 虽能区别胆碱并特异性识别乙酰胆碱, 但对乙酰胆碱的识别能力却不高; 而空间更大的人工受体 3-6b (图 3.2) 比空间稍小的人工受体 3-6a 虽然可以更好地识别具有长“尾巴”的乙酰胆碱, 但该化合物对胆碱的识别能力却与乙酰胆碱相近, 无法特异性选择识别乙酰胆碱 (表 3.1)。

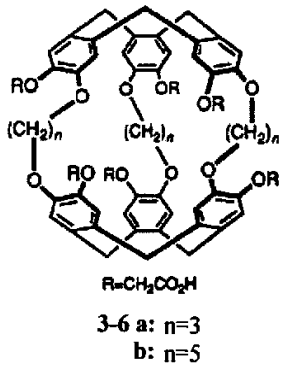


图 3.2 人工受体 3-6a 和 3-6b

表 3.1 人工受体 3-6 对两种客体的包结自由能

客 体	包结自由能 ΔG (kcal/mol)	人工受体	
		3-6a	3-6b
乙酰胆碱	-1.6	-5.2	
胆碱	-3.5	-5.3	

2003 年, 韩国的 Sunggoo Yun 等人^[14]利用计算机模拟设计并合成了苯环为

母体的“三脚”型乙酰胆碱受体 **3-7** (图 3.3), 通过离子选择性电极法(Ion-selective electrode ISE)研究, 发现该受体对乙酰胆碱的识别能力是铵离子的 24 倍。在氯仿溶液中, 该受体对氯化乙酰胆碱的包结自由能($-\Delta G$)为 3.65 kcal/mol ($K_a = 472$ (mol/L) $^{-1}$), 故他们预测若在非氯离子存在水溶液中, 受体对乙酰胆碱的包结自由能可达 6 kcal/mol。同时, 作者指出, 在没有负电荷基团和氢键作用的存在下受体能有如此识别能力, 说明阳离子- π 作用在对乙酰胆碱类季铵离子的识别过程中起主要作用。但是, 该受体对乙酰胆碱的识别能力仍然无法与天然乙酰胆碱受体相媲美(亲和常数在 nmol/L 级范围), 且难以实现在生理条件下进行测试。

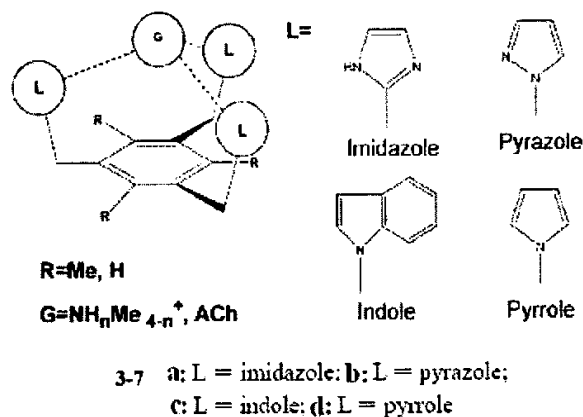


图 3.3 “三脚”型乙酰胆碱受体 **3-7**

要实现乙酰胆碱受体能在生理条件下检测, 人工受体的条件之一必须是在水溶液中有较好的溶解性。为改善人工受体的水溶性, 很多研究者采用了以杯芳烃为母体进行磺酸化的改造。日本著名的有机合成家 ShinKai^[15-22]及其研究小组很早就进行了大量杯芳烃磺酸化以及对乙酰胆碱等季铵离子进行生理条件下识别行为的研究。研究发现, 在中性水溶液(水-甲醇)条件下进行的非破坏性发光检测结果中, 磺酸化杯[4]芳烃 **3-8a** (图 3.4) 对乙酰胆碱的识别能力比磺酸化杯[6]芳烃 **3-8b** (图 3.4) 强, 但其识别能力仍然不高($K=1175$ (mol/L) $^{-1}$)。同时为抑制荧光探针的聚合, 其检测溶液中使用了甲醇作为溶剂之一, 与生理条件有所区别。另外, Jin^[23]利用磺酸化杯[8]芳烃 **3-8c** (图 3.4) 和丹酰氯衍生物荧光探针 **3-9** (图 3.4) 的检测体系进行乙酰胆碱的识别研究。发现该受体能以 1:2 的比例包结季铵离子, 但仍然不能区分胆碱与乙酰胆碱, 而在生物体系中由于乙酰胆碱会被乙酰胆碱酶迅速水解为胆碱, 两者是大量共存的。

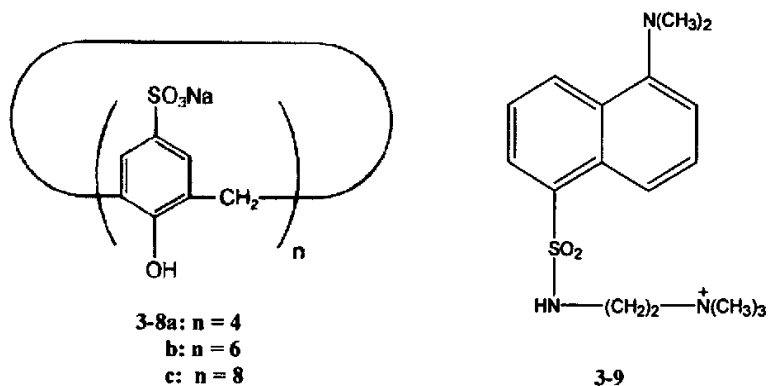
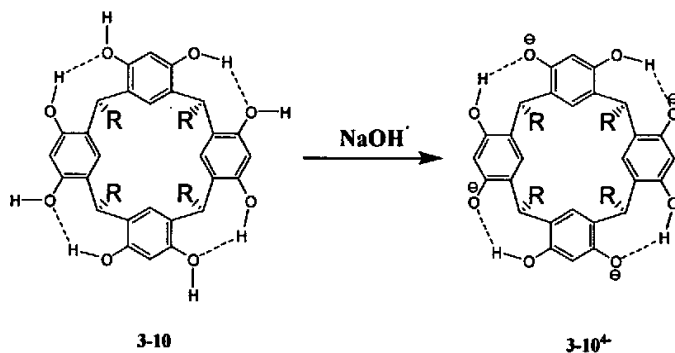


图 3.4 磺酸化杯芳烃受体 3-8 和丹酰氯衍生物荧光探针 3-9

间苯二酚类杯芳烃(Resorcinarenes)3-10 (图 3.5) 也是一种能识别季铵阳离子的环番化合物。由于间苯二酚类杯芳烃两个相邻酚羟基间能形成氢键, 疏水链能稳定地处于直立构象, 而使整个分子形成名副其实的杯状, 从而有着比单酚类杯芳烃(Calixarenes)更具刚性的疏水空腔。Shinkai^[16]和 Uagaro^[24]指出, 这种刚性结构可提高对阳离子的选择性。在强碱性条件下(0.01 mol/L NaOH/H₂O), 间苯二酚类杯[4]芳烃脱去四个酚羟基上的质子, 得到带四个负电荷的富电子环状结构化合物 3-10⁴⁻ (图 3.5)^[25]。该化合物虽可通过静电作用和阳离子- π 作用对包括胆碱在内的季铵离子有较强的识别能力(四甲基铵: $K_a = 3.0 \times 10^4 (\text{mol/L})^{-1}$ 、三甲基丙基铵: $K_a = 4.0 \times 10^4 (\text{mol/L})^{-1}$ 、胆碱: $K_a = 5.0 \times 10^4 (\text{mol/L})^{-1}$)^[25], 但该识别过程是在强碱性条件下进行, 不但与生理条件有所差异, 而且在该条件下乙酰胆碱会因较易水解而使对其检测带来困难^[17]。虽然如此, 间苯二酚类杯芳烃却已显示了作为乙酰胆碱人工受体的改造母体的巨大的潜在应用前景。

图 3.5 间苯二酚类杯[4]芳烃 3-10 和 3-10⁴⁻

2000 年, Hong^[26]等人报道了一个对吡啶盐和季铵离子(表 3.2)有识别作用

的水溶性间苯二酚类杯[4]芳烃 **3-11a** (图 3.6)。该化合物对在苯基间位或对位带有烷基、苯基或烷氧基的三甲基苯基铵客体 (如 **I** 和 **J**) 的包结常数大于不带任何取代基的三甲基苯基铵客体 (如 **H**) 的包结常数, 揭示了主-客体识别过程中疏水作用的重要性。同时, 比较对客体 **F** 和 **G** 的包结常数, 还发现一个适当长度的烷基体系在非极性空腔中表现出有效的疏水作用。此外, 作者在该化合物的单体 **3-11b** (图 3.6) 中加入客体分子 **J** 后, 没有发现有识别作用, 说明没有疏水空腔的单体的羧基的静电作用在识别过程中不起主要作用。虽然, 该化合物对乙酰胆碱的包结常数并不高, 但揭示了一个具有刚性杯状的适度大小的疏水结构空腔在识别客体分子时起主要作用。

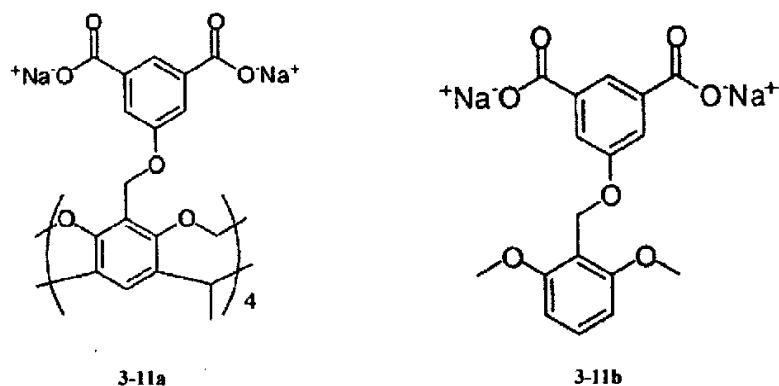


图 3.6 间苯二酚类杯[4]芳烃 **3-11a** 及其单体 **3-11b**

表 3.2 间苯二酚类杯[4]芳烃 **3-11a** 对不同客体的包结常数

Binding constants (M^{-1}) of the 1:1 host-guest complexes in D_2O^a

80	160	150	600	1300	2000
A	B	C	D	E	F
1100	500	5200	3500	N.D. ^c	1200
G	H	I	J	K^b	L
					1200
					M

^a Binding constants were obtained by 1H NMR titrations on the basis of the 1:1 binding model at 300 K. All counterions are Cl^- . ^b Counterion is Na^+ . ^c No detectable complexation-induced 1H NMR shift changes were observed.

2002 年, 美国的 J. Rebek, Jr.^[27]等人也报道了一个类似的具有苯环疏水空腔

的“深凹”型间苯二酚类杯[4]芳烃 **3-12** (图 3.7)。该受体借助阳离子- π 作用、疏水空腔形状与客体分子的匹配以及受体上沿的氨基与客体的羟基间的氢键作用, 对胆碱有较强的识别能力 ($K_a = 12000(\text{mol/L})^{-1}$), 但对乙酰胆碱的识别能力却不强 ($K_a = 400(\text{mol/L})^{-1}$)。2003 年, 他们^[28]在此基础上, 将苯环取代基改为带羧基的苯并咪唑基, 设计了一个更深的“口袋”型水溶性间苯二酚类杯[4]芳烃受体 **3-13** (图 3.7)。但该受体对乙酰胆碱的识别能力提高了很多 ($K_a = 14600(\text{mol/L})^{-1}$), 但是对胆碱仍然保持了更强的识别能力 ($K_a = 25900(\text{mol/L})^{-1}$)。

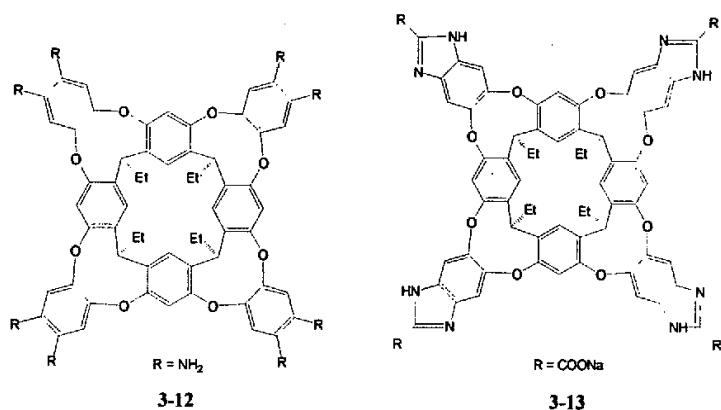


图 3.7 “口袋”型间苯二酚类杯[4]芳烃受体 **3-12** 和 **3-13**

2004 年, 我们课题组^[29a]报道了一个具有四个氰基取代的间苯二酚类杯[4]芳烃 **3-14** (图 3.8)。四个直立的氰基扩展了杯的疏水空腔, 更利于包结客体分子。同时, 四个氰基的吸电子作用使酚羟基在中性水溶液中易于离解, 使其有较好的水溶性和丰富的负电荷。在中性水溶液中进行的对乙酰胆碱的非破坏性光学检测中, 发现其对乙酰胆碱的包结常数达 $10^5(\text{mol/L})^{-1}$ 。而且, 随着溶液 pH 值的增加, 识别能力越强。但该化合物对四甲基铵离子和胆碱的识别能力与对乙酰胆碱相差不多^[29b]。

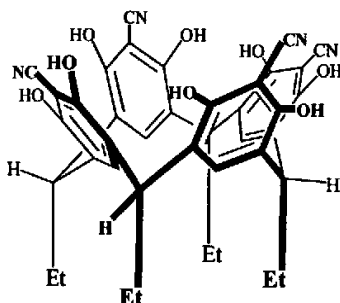


图 3.8 四氰基间苯二酚类杯[4]芳烃 **3-14**

由上可见, 目前所报道的乙酰胆碱人工受体存在识别能力低下、非生理条件以及选择性差等缺点, 为了更好的理解乙酰胆碱等的生物识别机制与功能, 同时考虑到将人工受体做成易于进行光学检测的分子器件, 很有必要开发生理(或中性水溶液)条件下对乙酰胆碱分子有高特异选择性识别能力的且能利用光学手段进行检测的新型人工受体。

3.1.2 选题意义与立题思路

季铵阳离子特别是乙酰胆碱在生命体系中的信号传导方面起着重要的作用, 因此设计合成生理条件下的高性能季铵阳离子特别是乙酰胆碱的人工受体对于阐明生物体内这些阳离子的识别机制和进一步开发高特异选择识别性能的分子器件有着重要的意义。

通过前面的阐述, 可以看出: 间苯二酚类杯[4]芳烃是一个很好的乙酰胆碱受体, 但需要在强碱性条件下才能较好的识别乙酰胆碱, 限制了其在临床医学上的应用。为此, 我们以间苯二酚杯[4]芳烃为母体, 尝试通过一个短的两个基本点碳的连接臂将环糊精与杯连接上, 从而改善杯的水溶性, 并希望连接到杯上的具有内疏水空腔的环糊精“帽子”能与杯协同作用, 帮助提高该受体对乙酰胆碱与胆碱的识别选择性。图 3.9 是 β -环糊精-间苯二酚杯[4]芳烃的连接体 3-15 作为新的乙酰胆碱人工受体模型。

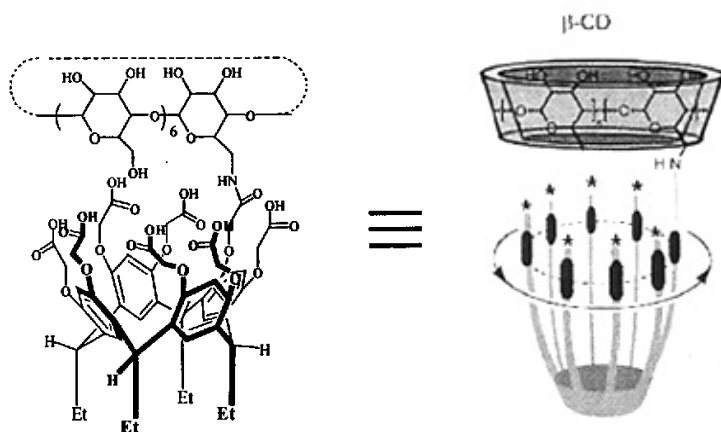


图 3.9 β -环糊精-间苯二酚杯[4]芳烃连接体 3-15

3.2 β -环糊精-间苯二酚杯[4]芳烃连接体 3-15 的合成初探

3.2.1 合成路线

目标物 3-15 是杯芳烃衍生物与 β -环糊精的连接体, 根据杯芳烃 2-9 和 β -环糊精的结构特点, 我们设计通过酰胺键连接两者。先将 β -环糊精用对甲苯磺酰氯磺酰化成为活性酯, 再用浓氨水衍生化成较为常见的中间体—氨基环糊精 3-17。同时将杯芳烃 2-9 的羟基与溴代乙酸乙酯, 生成八酯杯 3-18, 再将八酯杯在强碱水溶液中水解全部酯基。水解后的八酸杯 3-19 便可通过控制投料比与化合物 3-17 反应, 在 DCC 的脱水作用下, 生成酰胺键。

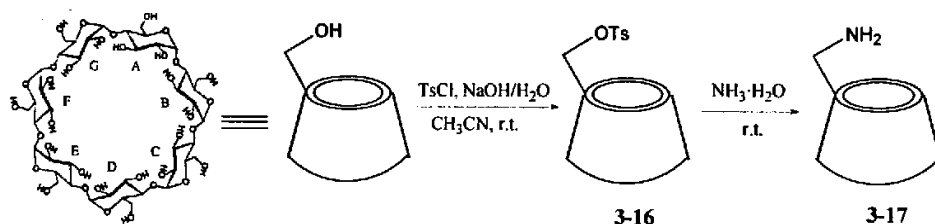


图 3.10 化合物 3-17 的合成

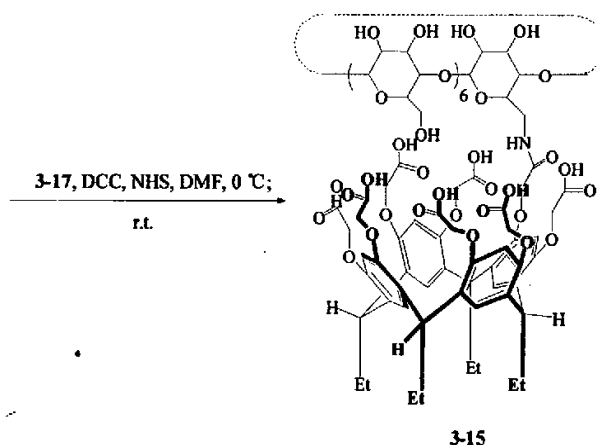
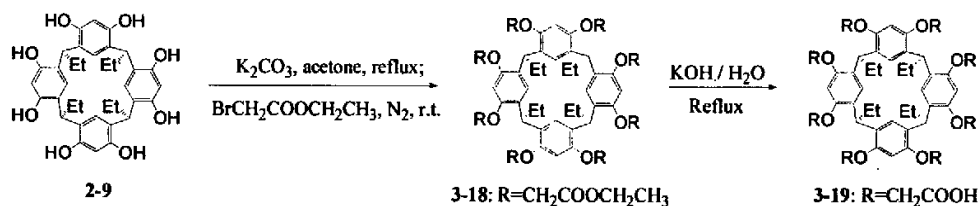


图 3.11 化合物 3-15 的合成

3.2.2 结果与讨论

3.2.2.1 β -环糊精的 6 位羟基单磺酰化方法的选择

化合物 **3-16** 是重要的 β -环糊精衍生化的中间体, 多采用 β -环糊精与对甲苯磺酰氯反应而得。采用不同的溶剂条件和操作方法, 有不同的效果。较为传统的方法^[30, 31]是采用严格干燥的吡啶为溶剂, 室温下搅拌过夜即可获得相对较高产率的化合物 **3-16** (30~50%)。该法重复性好、产物单一、收率高, 但要求试剂严格干燥, 且吡啶有毒, 不适合大量生产。后也有报道^[32]采用碱性水溶液法合成了化合物 **3-16**, 并经过改进, 产率可提高到 28%^[33]。也有报道^[34]采用四氢呋喃代替吡啶, 使对 β -环糊精的磺酰衍生化在不用严格干燥试剂及低毒的情况下获得 37% 的产率。还有报道^[35]用对甲苯磺酸酐代替对甲苯磺酰氯, 在碱性水溶液中反应, 获得较高产率(61%)的化合物 **3-16**。

我们尝试了对甲苯磺酸酐^[35]的方法, 但未能获得如文献报道的高产率, 且往往有较多的副产物生成, 不利于纯化; 而且对甲苯磺酸酐的生成产率也不高, 结果总产率比用对甲苯磺酰氯在碱性水溶液中反应的产率更低。当尝试采用四氢呋喃^[34]的方法时, 没有发现目标物生成。最终采用 β -环糊精与对甲苯磺酰氯在碱性水溶液中反应, 并保持整个反应过程的 pH 值不小于 12, 合成了目标物 **3-16**。产率 (16.5%) 未能达到文献^[33]报道值, 但能获得较为单一的目标物。该反应过程认为是非包结反应机理^[33]: 强碱性条件下, β -环糊精的 2, 3 位的仲羟基和 6 位的伯羟基均离解, 对甲苯磺酰氯不易被包结到 β -环糊精的空腔中, 故对甲苯磺酰氯不易与 2, 3 位的仲羟基氧接触, 于是更易选择性的与具有较小空间位阻的 6 位伯羟基氧反应。该反应采用将对甲苯磺酰氯的溶液慢慢滴加入 β -环糊精的溶液中的加料顺序, 保证整个过程 β -环糊精的量远远大于对甲苯磺酰氯, 从而能获得单一取代的产物。目标物与已有的标准物经 TLC 对比后, 直接作为下一步的原料, 未作进一步的结构认证。

3.2.2.2 化合物 **3-16** 的胺化

对化合物 **3-16** 进行胺化有两种方法^[30], 一是将化合物 **3-16** 进行叠氮化后还原; 另一个方法是化合物 **3-16** 与浓氨水在高压釜下反应。前者在叠氮化时使用

到叠氮化钠, 反应过程不够安全; 且在还原时采用贵金属钯, 成本较高及难以进行大量合成。后者采用 DMF 为溶剂, 高压下反应, 后处理用丙酮洗涤及离子交换树脂分离纯化, 反应过程虽相对前者简便, 但后处理用到离子交换树脂较为麻烦。

我们参考第二种方法, 并对其加以改进, 不但简化了反应条件 (不用高压) 和后处理过程, 而且大大提高产率。具体做法是: 直接将化合物 **3-16** 在浓氨水中封闭反应器反应, 开始化合物 **3-16** 没有全部溶解, 随着反应的不断进行, 化合物 **3-16** 不断转化成有较好水溶性的化合物 **3-17**。反应完全后, 由于反应液中主要为化合物 **3-17**, 故只需要将反应液浓缩后, 然后采用多次丙酮沉淀-水溶解方法进行纯化, TLC 跟踪纯化情况, 确定纯化程度。可以获得较高产率 (85.7%) 的纯化合物 **3-17**。化合物的结构得到核磁共振氢谱和碳谱确证 (见附图 3.1、3.2)。

3.2.2.3 化合物 **2-9** 的羧基甲基醚 (即八羧杯 **3-19**) 的合成

为了顺利将氨基环糊精连接在杯芳烃的杯口上, 首先需要对杯芳烃 **2-9** 的羟基进行衍生化, 我们选择了与溴代乙酸酯反应引入乙氧酰基甲基后再水解的方法, 杯芳烃与溴代乙酸酯反应的文献方法^[36-39]如下: 一般以碳酸钾作碱在丙酮溶剂中脱去杯芳烃的酚羟基上的氢, 然后与溴代乙酸酯进行亲核取代反应。为了让杯芳烃 **2-9** 上所有的酚羟基全部被取代及防止碳酸钾先与溴代乙酸乙酯反应, 我们采用在回流的情况下先让过量的碳酸钾与杯芳烃 **2-9** 充分反应, 待冷却后再在室温下加入过量的溴代乙酸乙酯进行取代。结果显示, 反应产物单一; 而且, 未反应的杯芳烃酚羟基盐不易溶于二氯甲烷中, 而全酯取代的杯芳烃 **3-18** 在二氯甲烷等溶剂中的溶解性能很好, 故只要将反应液浓缩后用二氯甲烷溶解并过滤, 滤液浓缩后即得目标物 **3-18**。化合物 **3-18** 结构经核磁共振氢谱和碳谱得以确证 (附图 3.3、3.4)。

酯水解常用的方法^[37-39]是将酯用有机溶剂溶解后在强碱性水溶液中搅拌或回流即可。不过在化合物 **3-18** 的所有酯基水解的反应中, 我们没有用有机溶剂溶解全酯取代的 **3-18**, 而是采用在 100℃ 的条件下与强碱性的饱和氢氧化钾水溶液回流 24 小时以上, 分离纯化所得的化合物 **3-19** 经初步的结构确证显示, 所有的酯基都被水解成酸 (附图 3.5 和 3.6)。

3.2.2.3 化合物 3-15 的合成初探

连接化合物 3-17 与化合物 3-19 的反应是杯芳烃 3-19 的乙酸基与环糊精衍生物 3-17 的氨基生成酰胺键的反应。酰胺键的生成一般是采用羧基活化和偶联剂的使用两种方法。羧基活化的方法一般有用二氯亚砷或三氯化磷等将羧基变成酰氯、用酰氯将羧基变成酸酐、将羧基变成叠氮酰基和将羧基变成活性酯等。偶联剂一般为碳二亚胺类化合物如卡特试剂(BOP)、1-羟基苯并三唑(HOBt)和 N,N'-二环己基二亚胺(DCC)等, 也有 Woodward 试剂。在实际应用中往往两种方法同时使用。在我们的合成中, 为使杯芳烃 3-19 的羧基变成活性酯, 采用 N-羟基丁二酰亚胺(NHS), 同时使用了较为常用的 N,N'-二环己基二亚胺(DCC)为偶联剂。我们设想, 当环糊精衍生物 3-17 接到杯芳烃 3-19 上后, 由于空间阻碍作用, 已接上环糊精 3-17 的杯芳烃是不容易再接上环糊精衍生物 3-17 的。当所用的原料、活性剂及偶联剂的配比均为 1:1 时, 可以防止多取代副产物生成。

反应以 DMF 为溶剂, 0℃下慢慢加入活性剂与偶联剂后, 继续在室温下搅拌, 并 TLC 跟踪反应情况。反应 1 天后, TLC (展开剂: 正丙醇/乙酸乙酯/水/浓氨水=5/1/1/1) 发现在两原料点间出现了一个可在紫外灯下显色的点 b, 但该点在碘中并不显色。由于原料化合物 3-19 是能在紫外灯下显色的, 而原料化合物 3-17 只能在碘中显色, 故认为出现的新点不是目标物 3-15。反应 5 天后, TLC (展开剂: 正丙醇/乙酸乙酯/水/浓氨水=5/1/1/1) 发现, 两原料点间除了出现仅在紫外灯下显色的点 b 外, 还出现一个既能在紫外下显色也能在碘中显色的新点 c (图 3.12)。反应 9 天后, TLC (展开剂: 正丙醇/乙酸乙酯/水/浓氨水=5/1/1/1) 发现, 点 b 消失, 而点 c 的量大大增加, 原料点 a 和 d 的相对量大大减少 (图 3.12), 说明点 c 很可能为目标化合物 3-15。该化合物有待分离纯化, 并进行进一步的结构确证。

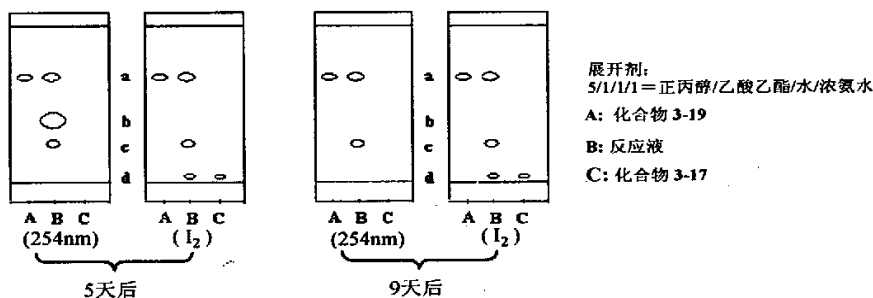


图 3.12 反应的 TLC 情况

3.3 实验部分

3.3.1 仪器与试剂

核磁共振波谱仪: American Varian Mercury-Plus 300(300 M Hz) (氘代氯仿、氘代二甲基亚砜、重水、氘代丙酮、氘代甲醇作溶剂, TMS 为内标);

液相色谱质谱联用仪: Japan Shimadzu ESI-LCMS-2010A;

实验所用试剂, 均为市售化学纯或分析纯, 除特别说明外, 未加处理直接使用。

3.3.2 化合物 3-15~19 的合成

3.3.2.1 化合物 3-16 (简称 6-OTs- β -CD)

8.0 mL 氢氧化钠(300 mg, 7.5mmol)水溶液中加入 β -环糊精(1.7 g, 1.5 mmol), 在搅拌中将用最少量乙腈溶解的对甲苯磺酰氯(285mg, 1.5 mmol)慢慢滴加到 β -环糊精的溶液中。室温下搅拌 2 小时后, 用稀盐酸调整 PH 值至 6。将反应液过滤, 滤液于 4℃下放置过夜。次日将所得白色沉淀过滤后, 依次用冷水和丙酮洗涤滤渣至 TLC 检测无原料。沉淀烘干后得白色固体化合物 3-16 (320mg, 16.5%)。

3.3.2.2 化合物 3-17 (简称 6-NH₂- β -CD)

将化合物 3-16 (2.00 g, 1.55mmol) 溶解于浓氨水 (100mL) 中, 室温下搅拌 48 h 以上。停止反应后, 反应混合物浓缩后加入到大量丙酮 (300ml) 中, 此时有大量的白色絮状沉淀析出。过滤后, 滤渣用少量浓氨水溶解后再滴加到大量丙酮 (300ml) 中。重复该过程, 所获得的滤渣经干燥后得化合物 3-17 (1.51 g, 85.7%)。

化合物 3-17: ¹H NMR (D₂O, Acetone-d₆, CD₃OD, 300MHz, TMS int) (附图 3.1) δ : 2.926 (dd, 1H; H6^A), 3.169 (d, 1H; H6^A), 3.490 (t, 1H; H4^A), 3.459~3.686 (m, 13H; H2, H4), 3.849~3.932 (m, 19H; H5, H6), 3.963 (t, 7H; H3), 5.086 (s, 7H; H1); ¹³C NMR ((D₂O, Acetone-d₆, CD₃OD, 500MHz, TMS int), (附图 3.2) δ : 42.105 (C6^A), 61.207 (C6), 72.547 (C5^A), 72.778 (C5), 73.002 (C2^A), 73.964 (C2), 74.021 (C3^A), 81.849 (C3), 82.051 (C4^A), 83.742 (C4), 102.519 (C1^A), 102.722 (C1)。

3.3.2.3 化合物 3-18

间苯二酚杯[4]芳烃 **2-9** (300 mg, 0.50 mmol) 溶解于丙酮 (15 mL) 中, 加入无水碳酸钾 (700 mg, 5.00 mmol)。混合物在 60℃ 加热回流 30 分钟, 冷却后在室温和氮气保护下慢慢滴加入溴代乙酸乙酯 (0.56 mL, 5.00 mmol)。滴加完毕后在室温和氮气保护下搅拌过夜。将反应液浓缩后用二氯甲烷 (15 mL) 充分溶解, 将不溶物过滤除去。滤液减压旋干, 加入 30 mL 饱和碳酸钾水溶液, 依次用 5×10 mL 二氯甲烷萃取, 合并有机层。有机层再用 5×10 mL 饱和碳酸钾水溶液萃取洗涤, 有机层用无水硫酸钠干燥过夜。干燥后将溶液过滤, 滤液减压旋干得黄色糖浆状固体为化合物 **3-18** (490 mg, 76.7%)。

化合物 **3-18**: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz, TMS int) (附图 3.3) δ : 0.960 (t, 12H; CHCH_2CH_3), 1.270 (t, 24H; OCH_2CH_3), 1.909 (m, 8H; CHCH_2), 4.201 (q, 16H; OCH_2), 4.263 (s, 16H; $\text{OCH}_2\text{C}=\text{O}$), 4.533 (t, 4H; CH), 6.218 (s, 4H; ArH), 6.632 (t, 4H; ArH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 300MHz, TMS int) (附图 3.4) δ : 12.2 (= CHCH_2CH_3), 13.8 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 27.1 (= CHCH_2CH_3), 36.9 (= CHCH_2CH_3), 60.5 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 66.7 ($-\text{OCH}_2\text{C}(\text{O})-$), 100.1 (Ar, C2), 125.8 (Ar, C4,6), 127.7 (Ar, C5), 154.0 (Ar, C1,3), 168.7 ($-\text{C}(\text{O})-$)。

3.3.2.4 化合物 3-19

化合物 **3-18** (322 mg, 0.25 mmol) 中加入 50 mL 氢氧化钾的饱和水溶液后, 100℃ 下回流 24 h 以上, 停止反应后加入浓盐酸调至 pH 值小于 1, 此时出现大量淡红色沉淀, 将沉淀离心过滤后, 加入约 20% 的盐酸浸泡洗涤并离心过滤, 重复五次以上, 沉淀烘干后得淡红色固体化合物 **3-19** (240 mg, 90.3%)。

化合物 **3-19**: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz, TMS int) (附图 3.5) δ : 0.870 (t, 12H; CHCH_2CH_3), 1.826 (m, 8H; CHCH_2), 4.306~4.509 (m, 20H; CH、 $\text{OCH}_2\text{C}=\text{O}$), 4.533 (t, 4H;), 6.373 (t, 4H; ArH), 6.592 (t, 4H; ArH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 300MHz, TMS int) (附图 3.6) δ : 12.52 (= CHCH_2CH_3), 27.90 (= CHCH_2CH_3), 36.54 (= CHCH_2CH_3), 51.66 ($-\text{OCH}_2\text{COO}^-$), 65.84 ($-\text{OCH}_2\text{COOH}$), 99.84 (Ar, C2), 125.25 (Ar, C4,6), 126.28 (Ar, C5), 153.76 (Ar, C1,3), 169.30 ($-\text{COOH}$), 170.25 ($-\text{COO}^-$)。

3.3.2.5 化合物 3-15 (简称: 间苯二酚杯[4]芳烃- β -环糊精连接体 3-15)

将化合物 **3-17** (28 mg, 0.025 mmol) 和化合物 **3-19** (26 mg, 0.025 mmol) 溶解于 1.0 mL 预先用氢化钙干燥过的 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 在 0℃ 下慢慢滴加入 1.0 mL N, N'-二环己基碳二亚胺 (DCC) (5.0 mg, 0.025 mmol) 和 N-羟基丁二酰亚胺 (NHS) (3.0 mg, 0.025 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液。室温下搅拌 9 天后, TLC 检测无化合物 **3-19** 及少量化合物 **3-17**, 出现一在紫外灯下及碘中均显色的点。(注: 后处理及结构认证目前未完成)

3.4 本章小结

本章探讨了新型的具有水溶性和多位点识别的乙酰胆碱受体的合成探索过程, 虽目前尚未获得目标化合物 **3-15**, 但很好的合成了系列中间体, 并对一些已知中间体的合成加以改进。

参考文献:

1. Schneider H.J., Schneider U., Inhibition of Choline Acetate Hydrolysis in the Presence of a Macrocyclic Polyphenolate, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 1613-1615.
2. Shepodd T. J., Petti M. A., Dougherty D. A., Tight, oriented binding of an aliphatic guest by a new class of water-soluble molecules with hydrophobic binding sites, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 6085-6087.
3. Shepodd T.J., Petti M. A., Dougherty D. A., Molecular recognition in aqueous media: donor-acceptor and ion-dipole interactions produce tight binding for highly soluble guests, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 1983-1985.
4. Petti M. A., Shepodd T. J., Barrans J. R. E., Dougherty D. A., "Hydrophobic" Binding of Water-Soluble Guests by High-Symmetry, Chiral Hosts. An Electron-rich Receptor Site with a General Affinity for Quaternary Ammonium Compounds and Electron-deficient π systems, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 6825-6840.
5. Kearney P. C., Mizoue L. S., Kumpf R. A., Forman J. E., McCurdy A., Dougherty D. A., Molecular recognition in aqueous media. new binding studies provide further insights into the cation- π interaction and related phenomena, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 9907-9919.
6. Forman J. E., Barrans J. R. E., Dougherty D. A., Circular Dichroism studies of molecular recognition with cyclophane hosts in aqueous media, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 9213-9228.

7. Stauffer D. A., Dougherty D. A., Ion-dipole Effect as a Force for Molecular Recognition in Organic Media, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 6039-6042.
8. Stauffer D. A., Barrans J. R. E., Dougherty D. A., Concerning the Thermodynamics of Molecular Recognition in Aqueous and Organic Media. Evidence for Significant Heat Capacity Effects, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 2762-2767.
9. Dougherty D. A., Stauffer D. A., Acetylcholine Binding by a Synthetic Receptor Implications for Biological Recognition, *Science*, **1990**, 250, 1558-1560.
10. Dhaenens M., Lacombe L., Lehn J. M., Vigneron J. P., Binding of Acetylcholine and other Molecular Cations by a Macrocyclic Receptor Molecule of Speleand Type, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 1097-1099.
11. Meric R., Vigneron J. P., Lehn J. M., Efficient Complexation of Quaternary Ammonium Compounds by a New Water-Soluble Macrocyclic Receptor Molecule, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 129-131.
12. Meric R., Vigneron J. P., Lehn J. M., Complexation of Quaternary Ammonium Cations by a New Basket-Shaped Macrocyclic Cyclophane, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1994**, 131, 579-583.
13. Garel L., Lozach B., Dutasta J. P., Collet A., Remarkable Effect of Receptor Size in the Binding of Acetylcholine and Related Ammonium Ions to Water-Soluble Cryptophanes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 11652-11653.
14. Yun S., Kim Y. O., Kim D., Kim H. G., Ihm H., Kim J. K., Lee C. W., Lee W. J., Yoon J., Oh K. S., Yoon J., Park S. M., Kim K. S., Rational Design of Biologically Important Chemosensors: A Novel Receptor for Selective Recognition of Acetylcholine over Ammonium Cations, *Organic letters*, **2003**, 5, 471-474.
15. Shinkai S., Mori S., Koreishi H., Tsubaki T., Manabe O., Hexasulfonated Calix[6]arene Derivatives: A New Class of Catalysts, Surfactants, and Host Molecules, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 2409-2416.
16. Shinkai S., Araki K., Manabe O., NMR Determination of Association Constants for Calixarene Complexes. Evidence for the Formation of a 1:2 Complex with calix[8]arene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 7214-7215.
17. Koh K. N., Araki K., Ikeda A., Otsuka H., Shinkai S., Reinvestigation of Calixarene-Based Artificial-Signaling Acetylcholine Receptors Useful in Neutral Aqueous (Water/Methanol)

Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 755-758.

18. Shinkai S., Arimura T., Satoh H., Manabe O., Chiral Calixarene, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 1495-1496.

19. Shinkai S., Kawabata H., Arimura T., Matsuda T., Satoh H., Manabe O., New Water-soluble Calixarenes Bearing Sulfonate Groups on the Lower Rim: the Relation Between Calixarene Shape and Binding Ability, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, **1989**, 1073-1074.

20. Shinkai S., Mori S., Araki K., Manabe O., Influence of Hexasulfonated Calix[6]arenes on the Reactivities of Arenediazonium Ions in an Aqueous System, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, *60*, 3679-3685.

21. Shinkai S., Mori S., Arimura T., Manabe O., Stabilization of Arenediazonium Ions by Complexation With Hexasulfonated Calix[6]arenes in an Aqueous System, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 238-240.

22. Shinkai S., Araki K., Matsuda T., Manabe O., NMR Determination of Association Constants for Aqueous Calixarene Complexes and Guest Template Effects on the Conformational Freedom, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, *62*, 3856-3862.

23. Jin T., A New Fluorometric Method for the Detection of the Neurotransmitter Acetylcholine in Water Using a Dansylcholine Complex with *p*-Sulfonated Calix[8]arene, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **2003**, *45*, 195-201.

24. Sansone F., Barbosa S., Casnati A., Sciotto D., Ungaro R., A New Chiral Rigid Cone Water Soluble Peptidocalix[4]arene and Its Inclusion Complexes with α -amino Acids and Aromatic Ammonium Cations, *Tetrahedron Letters*, **1999**, *40*, 4741-4744.

25. Schneider H. J., Guttes D., Schneider U., Host-Guest Complexes with Water-Soluble Macrocyclic Polyphenolates Including Induced Fit and Simple Elements of a Proton Pump, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 6449-6454.

26. Hong J. I., Park S. J., The Cooperative Effect of Electrostatic and Hydrophobic Forces in the Complexation of Cationic Molecules by a Water-Soluble Resorcin[4]arene Derivative, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 8311-8315.

27. Pablo B., Shivanyuk A., Far A. R., Rebek J., A Synthetic Receptor for Choline and Carnitine, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 14014-14016.

28. Hof F., Trembleau L., Ullrich E. C., Rebek J., Acetylcholine Recognition by a Deep,

Biomimetic Pocket, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 3150-3153.

29. (a) Tan S. D., Chen W. H., Satake A., Wang B., Xu Z. L., Kobuke Y., Tetracyanoresorcin-[4]arene as a pH Dependent Artificial Acetylcholine Receptor, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 2719-2721; (b) 谭颂德, 中山大学 2004 届博士学位论文.

30. Brown S. B., Coates J. H., Coghlan D. R., Synthesis and Properties of 6^A-amino-6^A-deoxy- α - and β -cyclodextrin, *Aust. J. Chem.*, **1993**, 46, 953-958.

31. 陈培丰, β -环糊精磺酰化的超分子作用机理研究, *福建师范大学学报(自然科学版)*, **2001**, 17, 50-53.

32. Petter R. C., Salek J. S., Sikorski T., Kumaravel G., Lin F. T., Cooperative Binding by Aggregated Mono-6-(alkylamino)- β -cyclodextrins, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3860-3868.

33. 黄怡, 范晓东, 碱性水溶液中 β -环糊精的选择性磺酰化, *西北大学学报(自然科学版)*, **2003**, 3, 41-44.

34. 郭生金, 赵树伟, 侯慧莉, β -环糊精6-位伯羟基的选择性磺酰化, *晋中师范高等专科学校学报*, **2001**, 18, 19-20.

35. Zhong N., Byun H. S., Bottman R., An improved synthesis of 6-o-monotosyl-6-deoxy- β -cyclodextrin, *Tetrahedron letters*, **1998**, 39, 2919-2920.

36. Fujimaki M., Kawahara S., Matsuzawa Y., Kurita Eiichi, Hayashi Y., Ichimura K., Macrocyclic Amphiphiles Monolayers of *O*-Octacarboxymethoxylated Calix[4]resorcinarenes with Azobenzene Residues Exhibiting Efficient Photoisomerizability, *Langmuir*, **1998**, 14, 4495-4502.

37. Shivanyuk A., Paulus E. F., Böhmer V., Vogt W., Selective Derivatizations of Resorcinarenes General Methods for the Synthesis of C_{2v} -Symmetrical Derivatives, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 6448-6449.

38. Hayashida O., Ito J., Matsumoto S., Hamachi I., Preparation and Unique Circular Dichroism Phenomena of Urea-functionalized Self-folding Resorcinarenes Bearing Chiral Termini through Asymmetric Hydrogen-bonding Belts, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 654-660.

39. Coveney D., Costello B., Preparation of Calixarene-derivatives Having Anti-viral Activity, *Eur. Pat. Appl.*, Application: EP 2003-76538, 22 pp.

附录一 第二章所合成化合物的波谱图

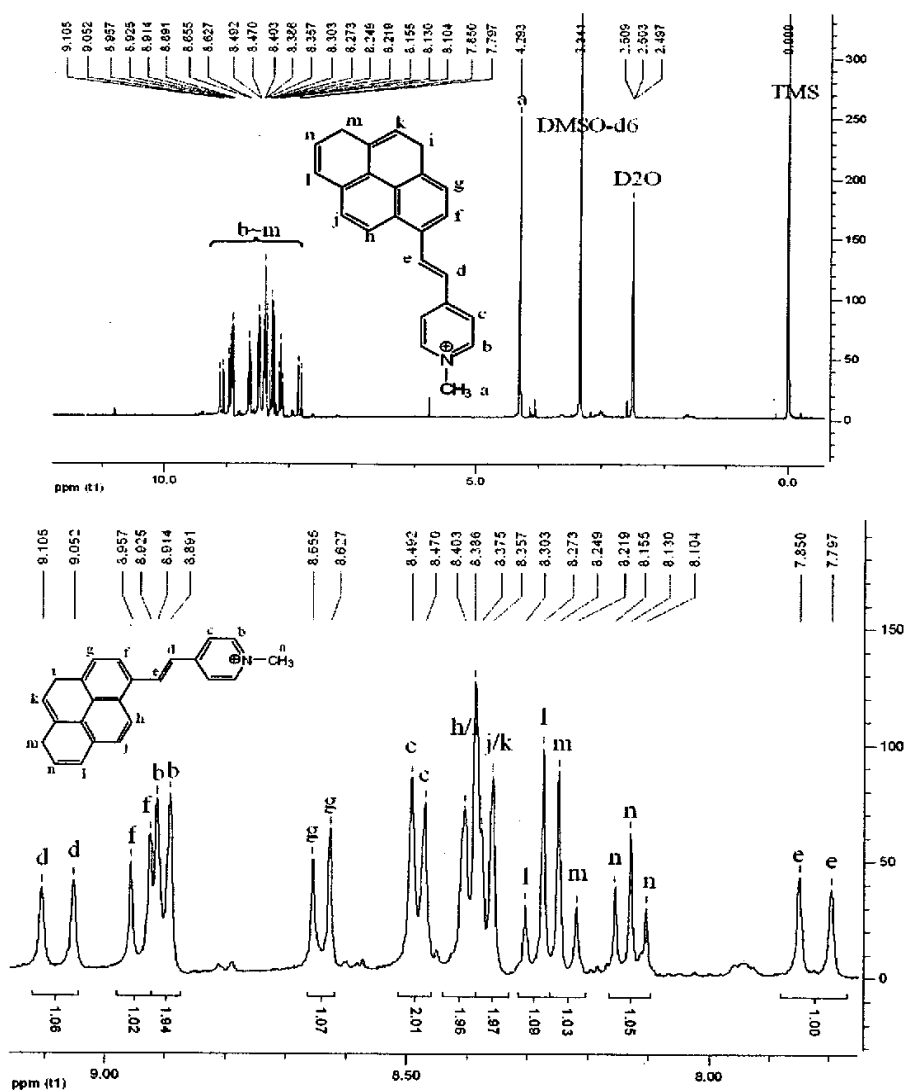
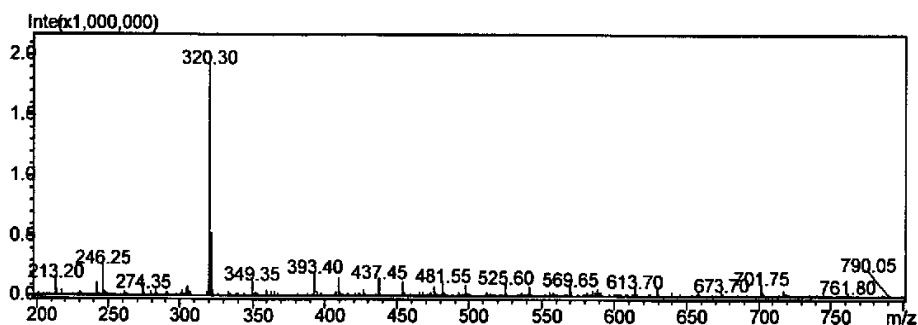
图 1.1 化合物 2-1 的 ^1H NMR (DMSO-d_6)

图 1.2 化合物 2-1 的 ESI 质谱

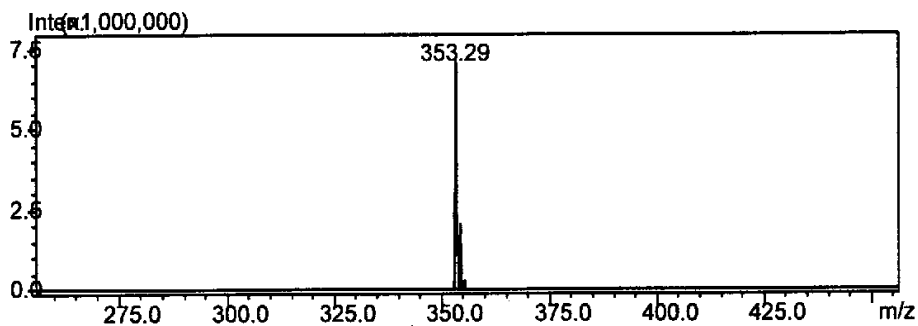
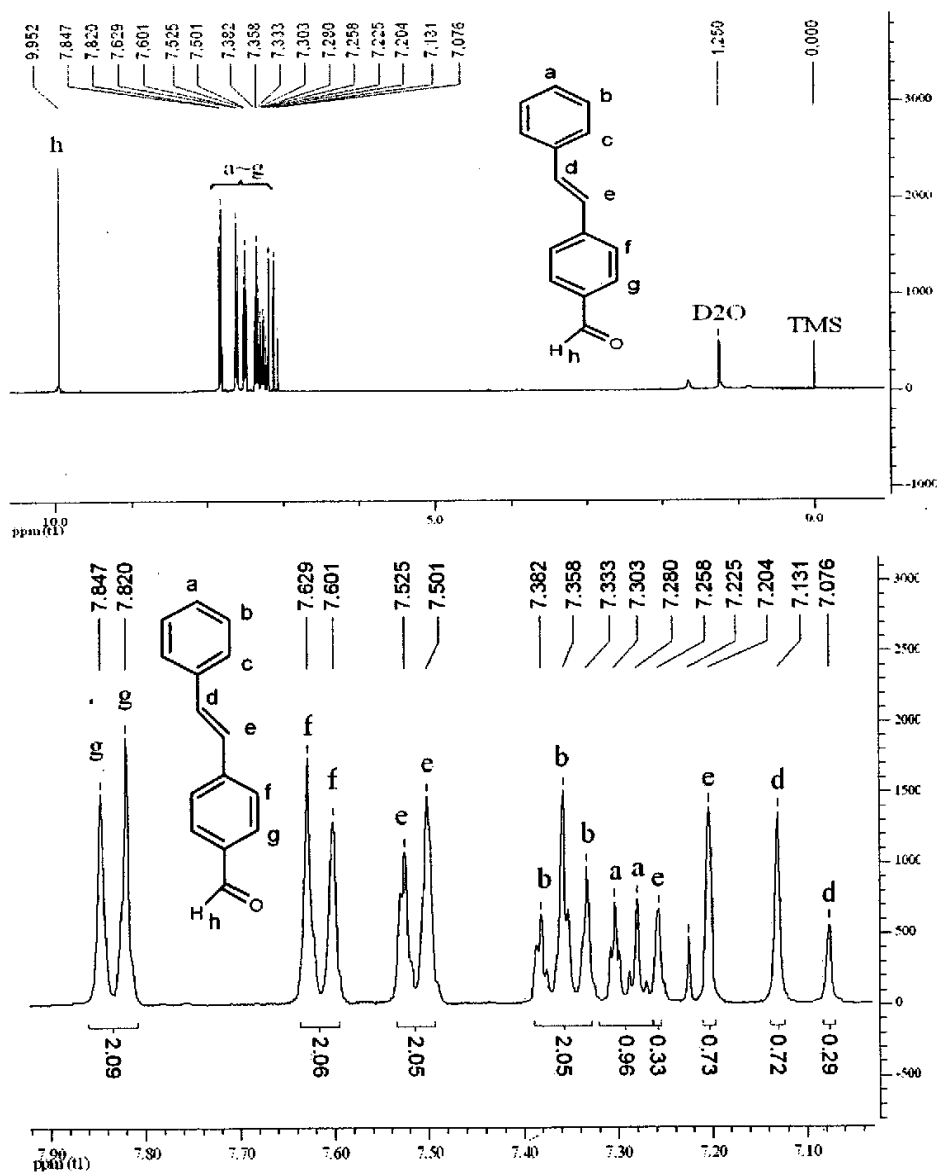


图 1.1 化合物 2-7 的 ESI 质谱

图 1.4 化合物 2-8 的 ^1H NMR (CDCl_3)

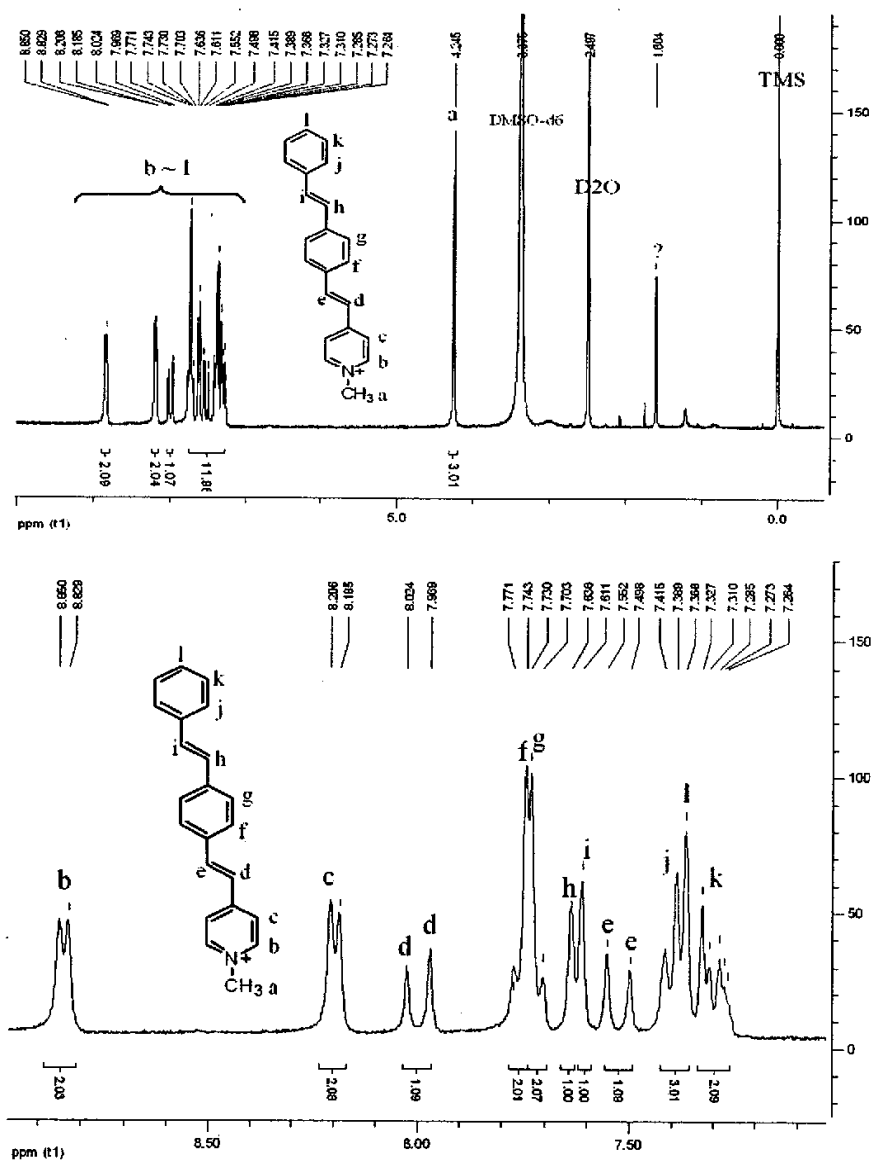
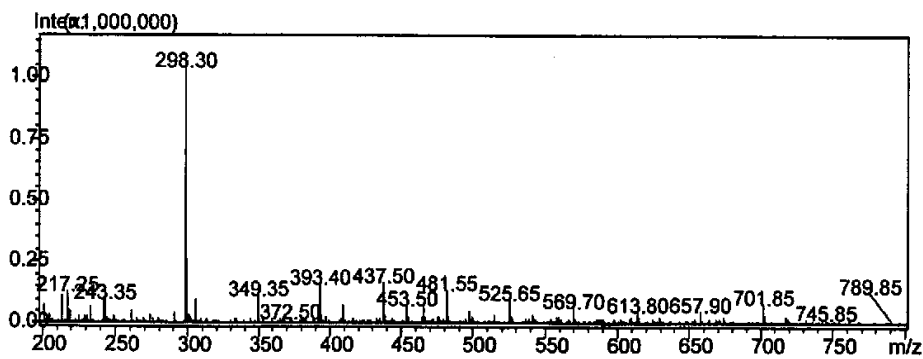
图 1.5 化合物 2-4 的 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$)

图 1.6 化合物 2-4 的 ESI 质谱

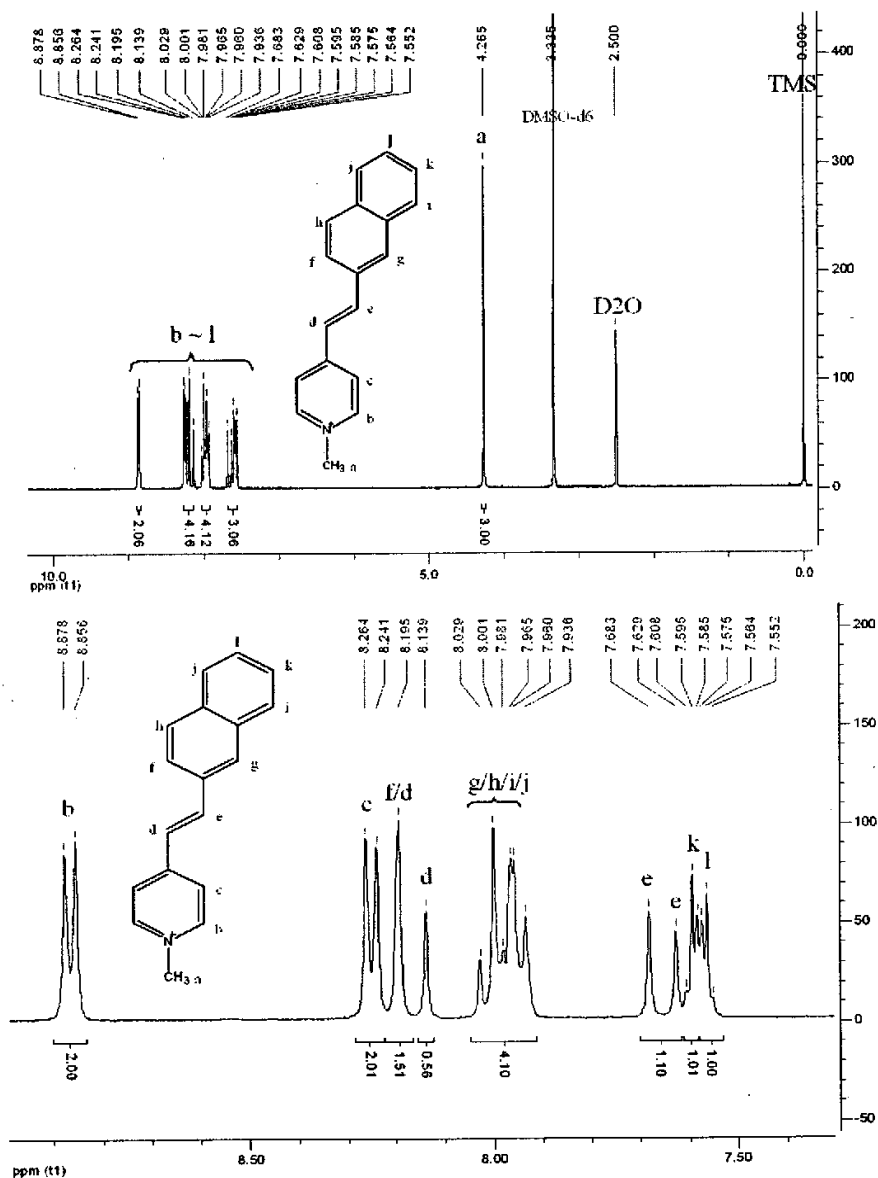
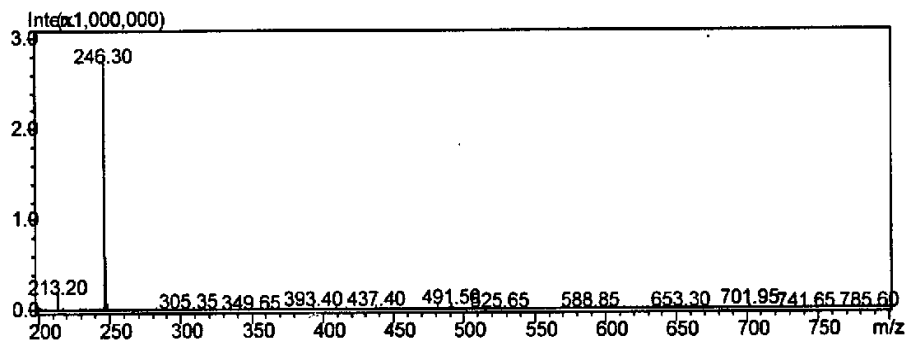
图 1.7 化合物 2-5 的 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$)

图 1.8 化合物 2-5 的 ESI 质谱

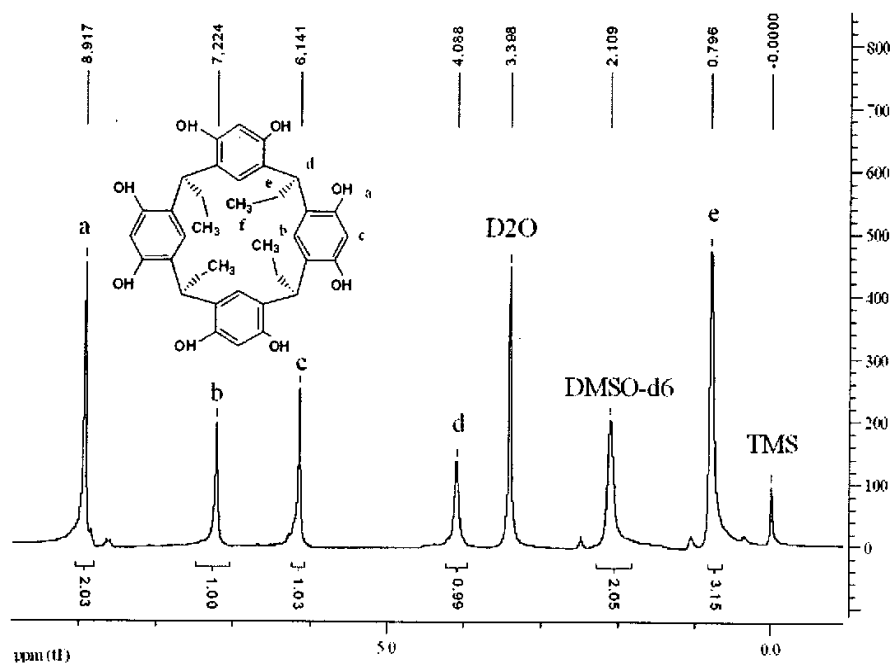
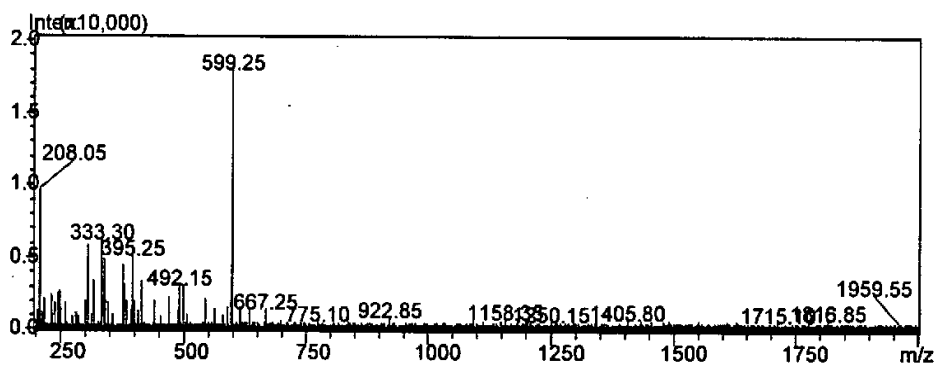
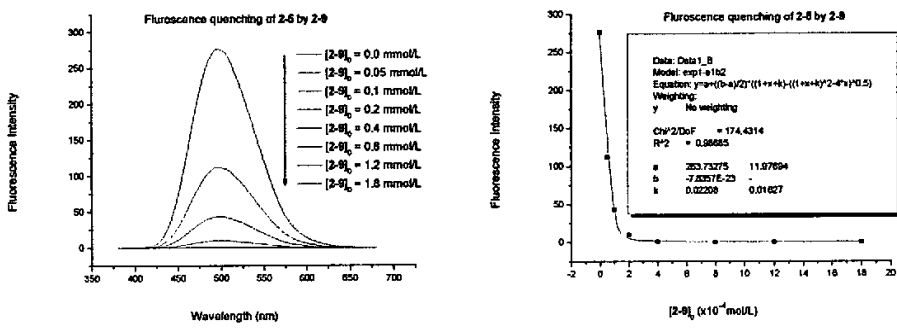
图 1.9 化合物 2-9 的 ^1H NMR (DMSO-d_6)

图 1.10 化合物 2-9 的 ESI 质谱

附录二 第二章的荧光测试光谱图及荧光数据

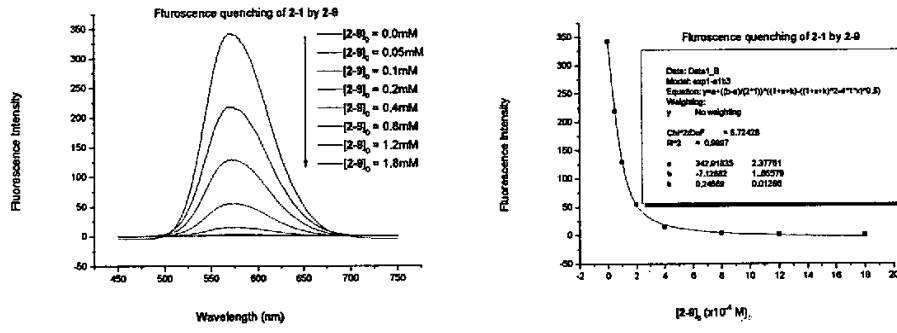


附图 2.1 探针 2-5 在甲醇碱性条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭光谱及数据拟合

附表 2.1 探针 2-5 在甲醇碱性条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭数据

[2-9] ₀ (mmol/L)	[2-9] ₀ / [2-5] ₀	I (500nm)
0.0	0	276.116
0.05	0.5	111.589
0.1	1.0	42.804
0.2	2.0	9.771
0.4	4.0	0.777
0.8	8.0	0.000
1.2	12.0	0.000
1.8	18.0	0.000

注：0.01mol/L KOH/MeOH 溶剂，室温，狭缝宽度：EX:3.0nm/EM:3.0nm，激发波长：355nm

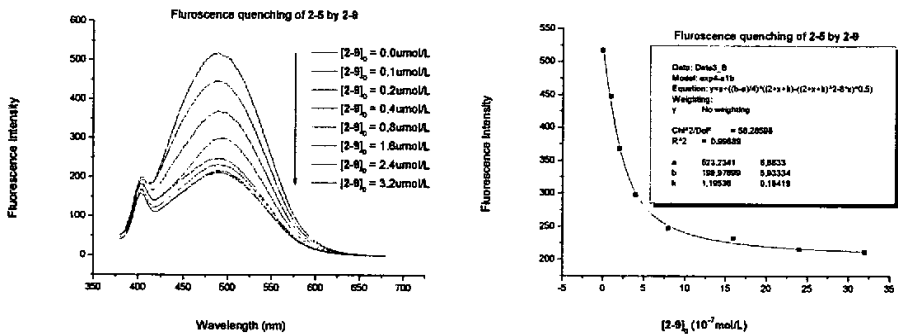


附图 2.2 探针 2-1 在甲醇碱性条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭光谱及数据拟合

附表 2.2 探针 2-1 在甲醇碱性条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭数据

$[2-9]_0$ (mmol/L)	$[2-9]_0 / [2-1]_0$	I (570nm)
0.0	0.0	341.962
0.05	0.5	218.402
0.1	1.0	128.673
0.2	2.0	54.739
0.4	4.0	14.631
0.8	8.0	3.490
1.2	12.0	1.493
1.8	18.0	0.691

注：0.01mol/L KOH/MeOH 溶剂，室温，狭缝宽度：EX:3.0nm/EM:3.0nm，激发波长：430nm

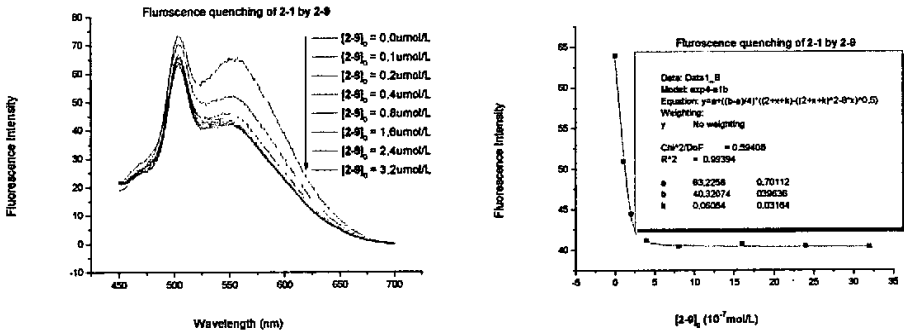


附图 2.3 探针 2-5 在中性水溶液条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭光谱及数据拟合

附表 2.3 探针 2-5 在中性水溶液条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭数据

$[2-9]_0$ (μ mol/L)	$[2-9]_0 / [2-5]_0$	I (500nm)
0.0	0	517.035
0.1	0.5	447.375
0.2	1.0	447.375
0.4	2.0	297.823
0.8	4.0	247.071
1.6	8.0	231.932
2.4	12.0	215.302
3.2	16.0	211.204

注：pH=7.00 磷酸钠缓冲液溶剂，室温，狭缝宽度：EX:10.0nm/EM:10.0nm，激发波长：355nm

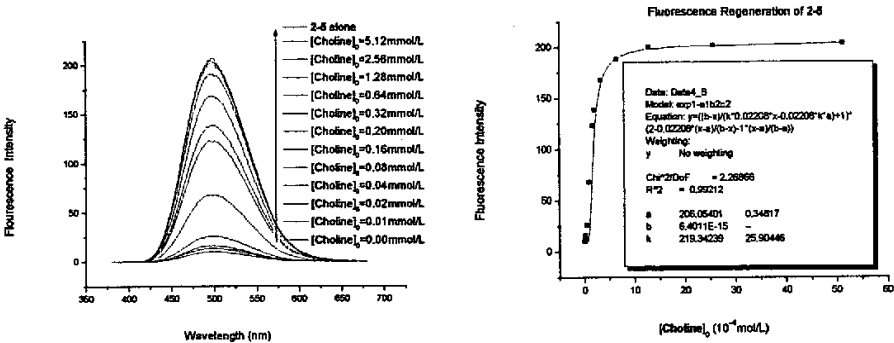


附图 2.4 探针 2-1 在中性水溶液条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭光谱及数据拟合

附表 2.4 探针 2-1 在中性水溶液条件下荧光被杯芳烃 2-9 淬灭数据

[2-9] ₀ (μmol/L)	[2-9] ₀ / [2-1] ₀	I (570nm)
0.0	0	63.925
0.1	0.5	50.929
0.2	1.0	44.416
0.4	2.0	41.131
0.8	4.0	40.389
1.6	8.0	40.702
2.4	12.0	40.463
3.2	16.0	40.340

注：pH=7.00 磷酸钠缓冲液溶剂，室温，狭缝宽度：EX:10.0nm/EM:10.0nm，激发波长：430nm

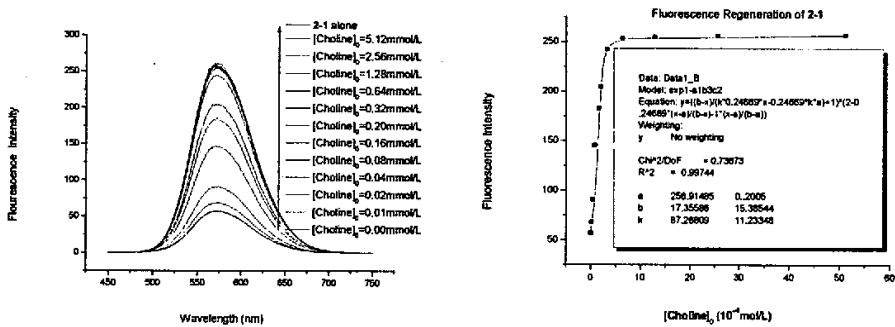


附图 2.5 化合物 2-5 在甲醇碱性条件下荧光再生光谱及数据拟合

附表 2.5 探针 2-5 在甲醇碱性条件下荧光再生数据

[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (500nm)	[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (500nm)
0.00	10.118	0.20	138.719
0.01	13.641	0.32	167.847
0.02	16.302	0.64	188.524
0.04	25.941	1.28	200.263
0.08	68.119	2.56	202.101
0.16	123.108	5.12	204.354

注：0.01mol/L KOH/MeOH 溶剂，室温，狭缝宽度：EX:3.0nm/EM:3.0nm，激发波长：355nm

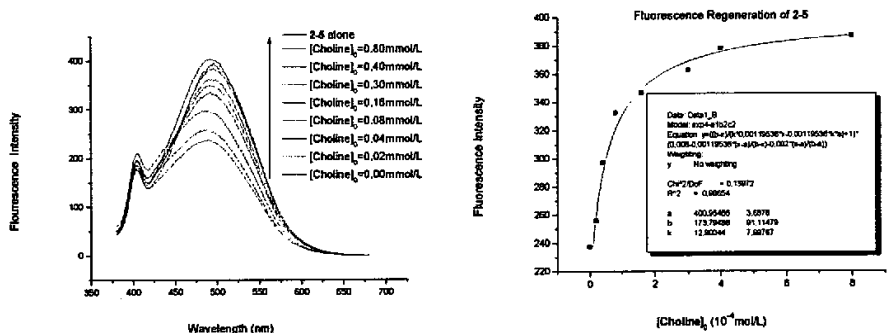


附图 2.6 化合物 2-1 在甲醇碱性条件下荧光再生光谱及数据拟合

附表 2.6 探针 2-1 在甲醇碱性条件下荧光再生数据

[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (570nm)	[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (570nm)
0.00	56.926	0.20	204.368
0.01	57.117	0.32	242.133
0.02	67.660	0.64	253.493
0.04	90.692	1.28	254.556
0.08	144.935	2.56	255.98
0.16	182.862	5.12	256.464

注：0.01mol/L KOH/MeOH 溶剂，室温，狭缝宽度：EX:3.0nm/EM:3.0nm，激发波长：430nm

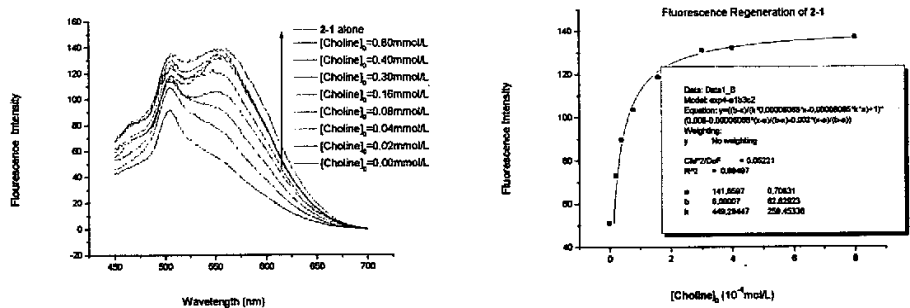


附图 2.7 化合物 2-5 在中性水溶液条件下荧光再生光谱及数据拟合

附表 2.7 探针 2-5 在中性水溶液条件下荧光再生数据

[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (500nm)	[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (500nm)
0.00	237.233	0.16	346.640
0.02	255.788	0.30	362.696
0.04	297.049	0.40	378.192
0.08	332.621	0.80	387.286

注：pH=7.00 磷酸钠缓冲液溶剂，室温，狭缝宽度：EX:10.0nm/EM:10.0nm，激发波长：355nm



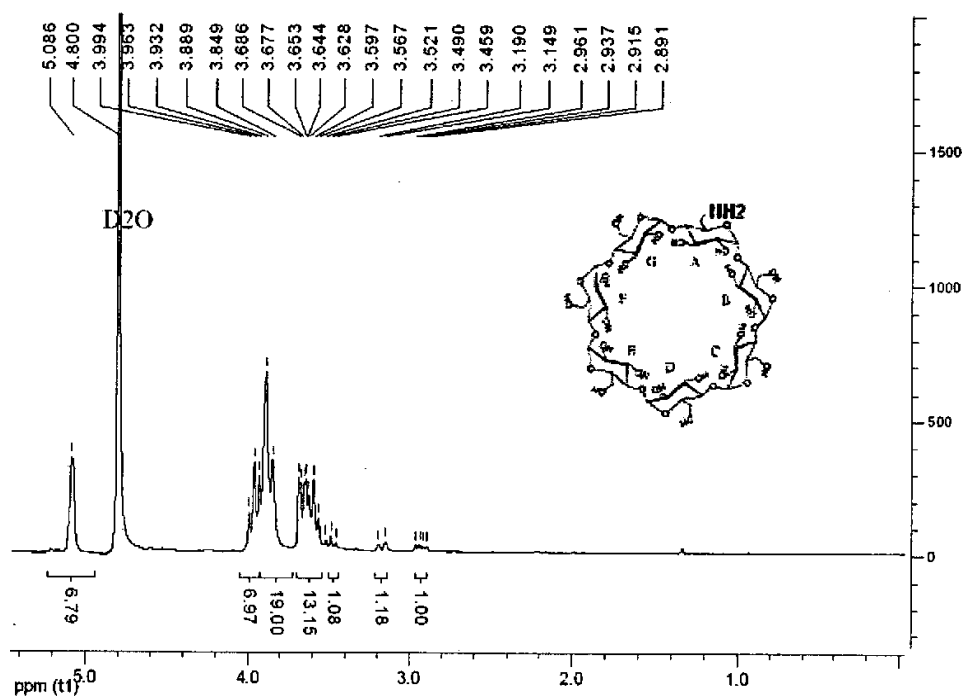
附图 2.8 化合物 2-1 在中性水溶液条件下荧光再生光谱及拟合数据

附表 2.8 探针 2-1 在中性水溶液条件下荧光再生数据

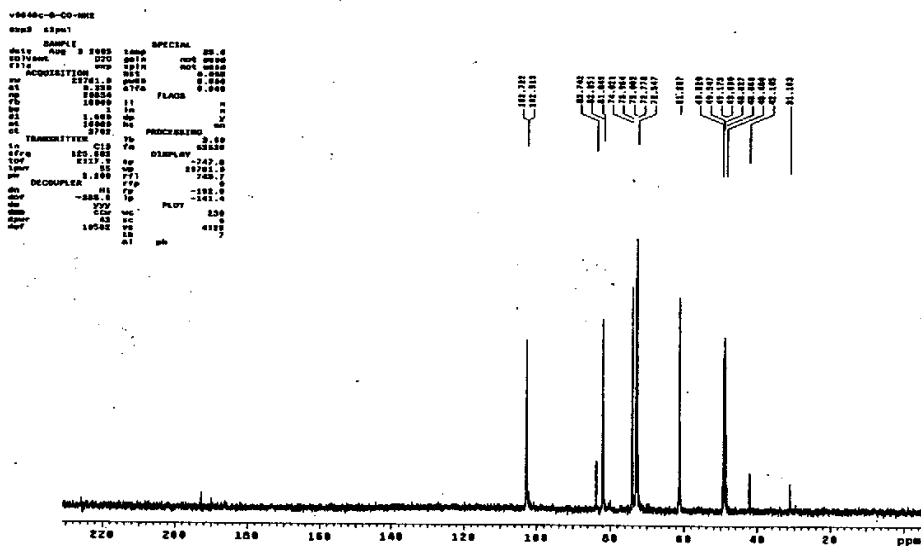
[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (570nm)	[氯化胆碱] ₀ (mmol/L)	<i>I</i> (570nm)
0.00	51.132	0.16	118.527
0.02	73.057	0.30	130.958
0.04	89.725	0.40	132.044
0.08	103.524	0.80	136.892

注：pH=7.00 磷酸钠缓冲液溶剂，室温，狭缝宽度：EX:10.0nm/EM:10.0nm，激发波长：430nm

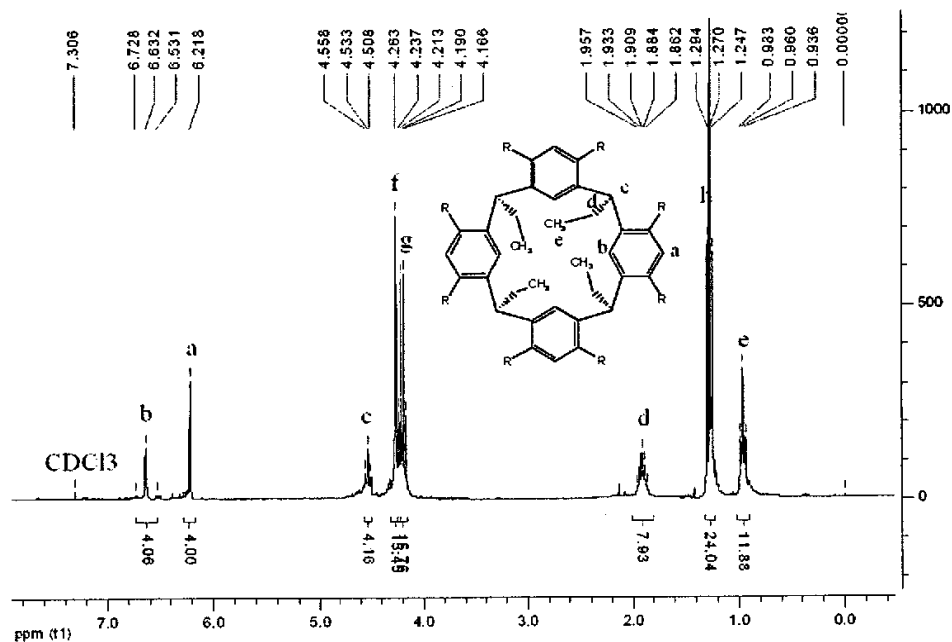
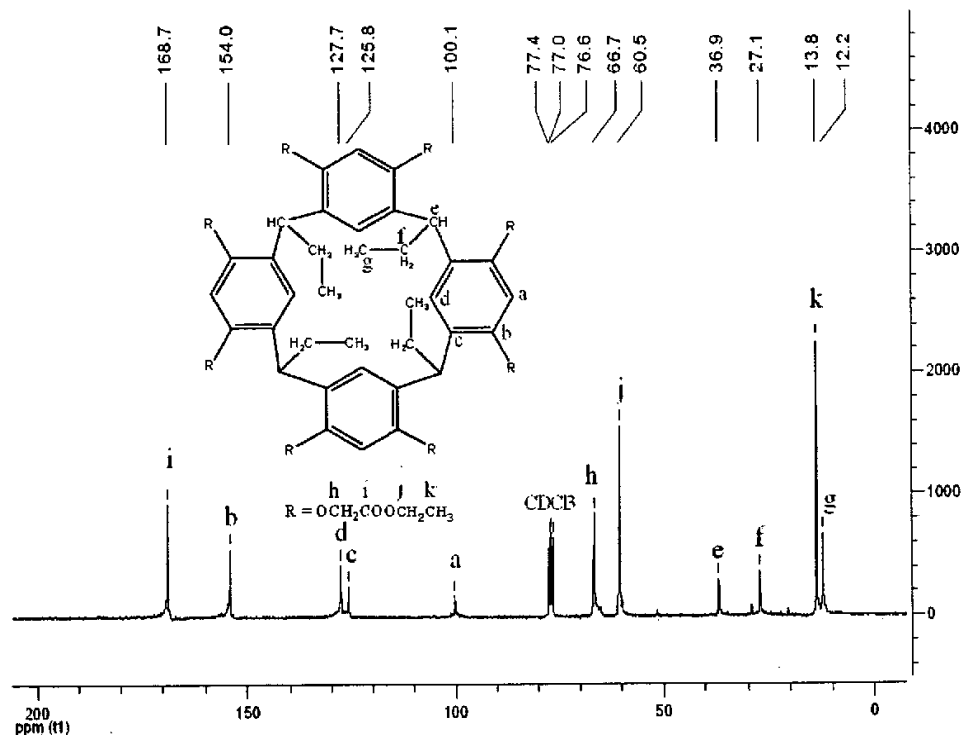
附录三 第三章所合成化合物的波谱图

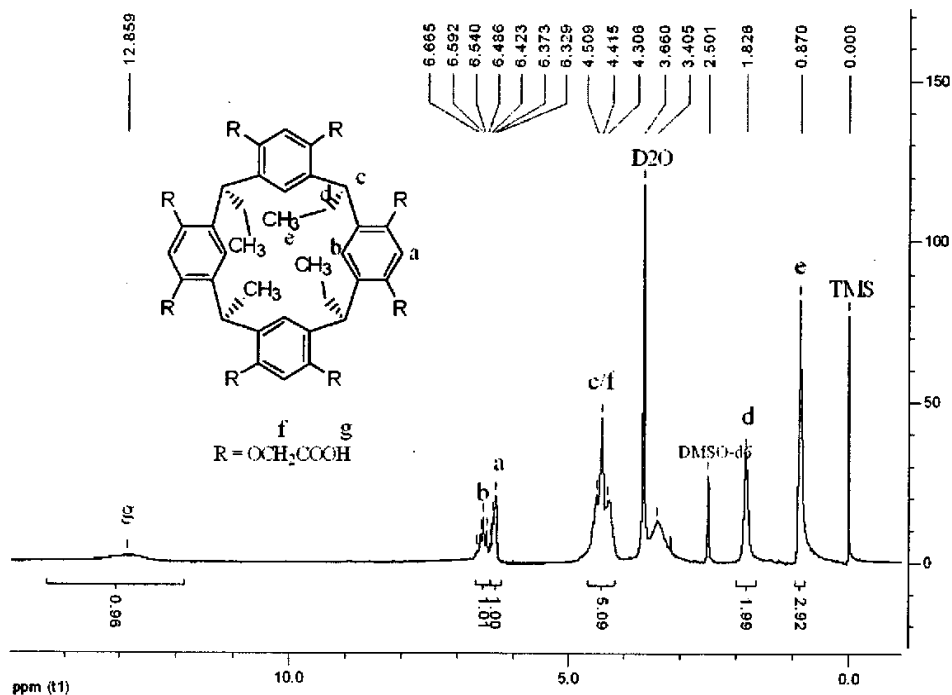
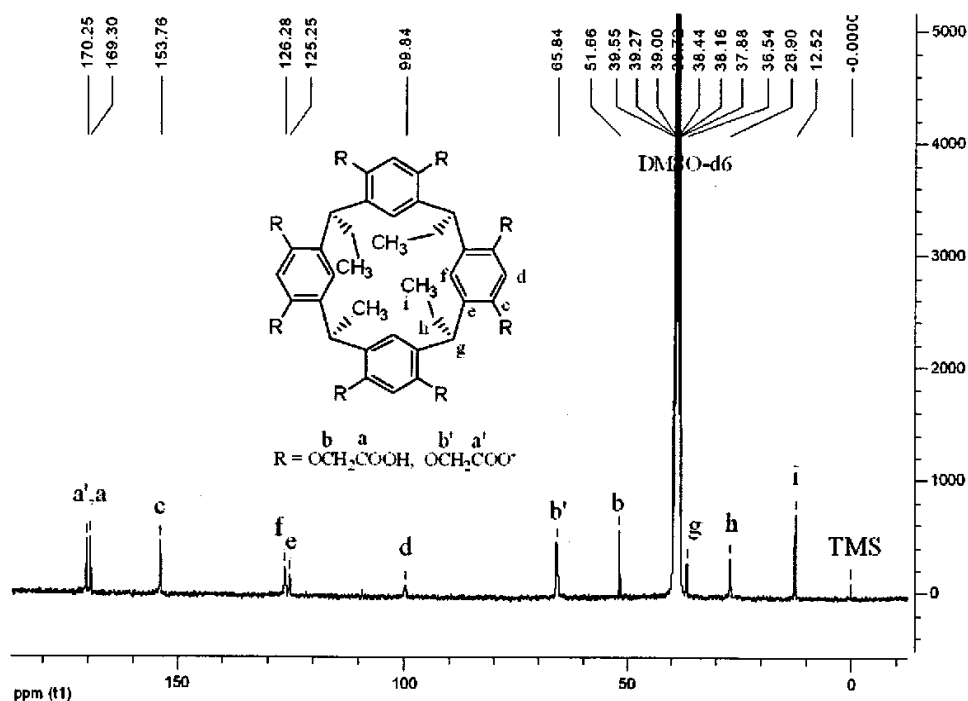


附图 3.1 化合物 3-17 的 ^1H NMR (D_2O)



附图 3.2 化合物 3-17 的 ^{13}C NMR ($\text{D}_2\text{O}+\text{CD}_3\text{OD}+\text{Acetone-d}_6$)

附图 3.3 化合物 3-18 的 ¹H NMR (CDCl₃)附图 3.4 化合物 3-18 的 ¹³C NMR (CDCl₃)

附图 3.5 化合物 3-19 的 ^1H NMR (DMSO- d_6)附图 3.7 化合物 3-19 的 ^{13}C NMR (DMSO- d_6)

致 谢

本论文是在导师汪波副教授的悉心指导下完成的。汪老师一丝不苟的工作精神和严谨的治学态度使我身受感染。工作上，她对学生的严格要求和认真负责，使我的专业知识和动手能力在两年的硕士研究生学习期间有了显著的提高；生活上，她对学生无微不至的关心让我的论文得以顺利完成。在此，表示衷心的感谢和深深的敬意！

同时，在论文完成期间，还得到了远在美国的陈文华老师、分析所马志玲老师和有机所庞冀燕老师、彭爱云老师、段桂嫦老师等诸位师长的帮助和指导，得到了本院中心测试室多位老师的帮助和指导。在此一一表示衷心的感谢！

感谢实验室魏影师姐、刘艳师姐、龙玉华师姐、黄绍智、蒋廷如、杨勋等同学和师弟妹的指导和帮助！

感谢父母和亲戚在学习和生活上的支持和鼓励！

感谢室友、球友在学习和生活上的支持和鼓励！

本研究课题得到广东自然科学基金资助，特此鸣谢！

曾少高

2006 年 5 月于中山大学

原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：曾少高

日期：2006年 6月 6日