



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101544844 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 16

(21) 申请号 200910050048. 2

(22) 申请日 2009. 04. 27

(73) 专利权人 东华大学

地址 201620 上海市松江区松江新城区人民北路 2999 号

(72) 发明人 徐洪耀 严正权 陈玉凤 光善仪

(74) 专利代理机构 上海泰能知识产权代理事务所 31233

代理人 黄志达 谢文凯

(56) 对比文件

CN 101395228 A, 2009. 03. 25,
JP 特开 2001-11070 A, 2001. 01. 16,
CN 101395228 A, 2009. 03. 25,
US 6482950 B1, 2002. 11. 19,
US 5231190 A, 1993. 07. 27,

审查员 吴宏霞

(51) Int. Cl.

C09B 57/00 (2006. 01)

C09K 11/06 (2006. 01)

G01N 33/53 (2006. 01)

G01N 21/64 (2006. 01)

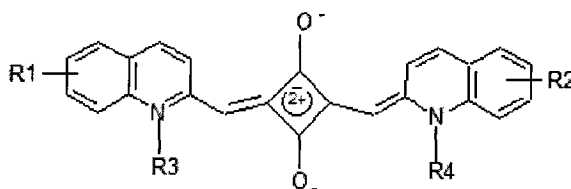
权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图 5 页

(54) 发明名称

喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料及其制备和应用

(57) 摘要

本发明涉及喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子结构通式如摘要附图所示。其制备包括:将 2- 甲基喹啉进行溴代、磺化、硝化、酰基化,再在乙腈与碘代酸或碘代酸酯作用生成喹啉季胺盐;将喹啉季胺盐与方酸混合,共沸蒸馏去水,减压蒸馏,硅胶柱层析,再用乙醇重结晶,得水溶性喹啉方酸菁染料;该染料应用于新药物开发、荧光标记与探针以及生物免疫分析、检测等领域。本发明的喹啉方酸菁染料其荧光发射波长在近红外区域,对环境、生物组织均具有优良的穿透性,减少自吸收和背景吸收,荧光分析的灵敏度可达 10^{-10} mol/L;该制备方法简单易行,成本低,经济效益好,适用于工业化生产。



1. 喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备方法,包括:

(1) 苯环上含有取代基的喹啉季铵盐的制备

I 喹啉衍生物的制备

将 2- 甲基喹啉与浓硫酸按体积比 1:5 混合,控制反应温度在 220℃ 以下,反应 3h,在冰水浴条件下用 NaOH 中和部分硫酸,调节 pH 为 5.8 ~ 6.2,用二氯甲烷萃取 20mL×5,合并有机相,减压蒸馏,再以硅胶为载体,二氯甲烷 / 乙酸乙酯体积比 3:1 为洗脱剂进行分离,得到 5- 磺酸基 -2- 甲基喹啉 45 ~ 50% 和 6- 磺酸基 -2- 甲基喹啉 14 ~ 20% ;

或将对磷酸基苯胺与无水乙醛按摩尔比 1:2 混合,并加入 2mL 浓硫酸,回流搅拌 4.5h,用 NaOH 中和部分硫酸,调节 pH 为 6.8 ~ 7.2,减压蒸出部分水,用二氯甲烷萃取 20mL×5,合并有机相,减压蒸馏,再以硅胶为载体,二氯甲烷 / 乙酸乙酯体积比 3:1 为洗脱剂进行分离,得到 6- 磷酸基 -2- 甲基喹啉 ;

II 喹啉季铵盐的制备

将上述 I 中制备的喹啉衍生物与碘代酸按摩尔比 1:1.1 混合,再加入 20mL 乙腈、回流加热 12h,待有大量沉淀生成,抽滤,乙醚洗涤后,硅胶柱层析,乙醇 / 二氯甲烷体积比 1:1.5 ~ 3,得喹啉季铵盐 ;

所述的碘代酸为碘甲酸、碘乙酸或正碘代丙酸 ;

(2) 喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

I 对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

将步骤(1)所制备的喹啉季铵盐与方酸按摩尔比 2:1 混合加入苯和正丁醇的混合溶液中,其中苯和正丁醇的体积比为 1:1,同时加入 0.5mL 喹啉,共沸蒸馏去水,反应 24h,减压蒸馏除去有机溶剂苯和正丁醇,硅胶柱层析,其中,乙醇、二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 4:3:1,再用乙醇重结晶,得对称水溶性喹啉方酸菁染料 ;

或 II 非对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

①将步骤(1)所制备的喹啉季铵盐 A 与方酸按摩尔比 1:1 混合加入苯和正丁醇的混合溶液中,其中苯和正丁醇的体积比为 1:1,同时加入 0.8mL 喹啉,共沸蒸馏去水,反应 24h,减压蒸馏除去有机溶剂苯和正丁醇,硅胶柱层析,其中,乙醇、二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 1 ~ 4:3:1 ~ 5,得半方酸菁染料 ;

②取半方酸菁染料与步骤(1)所制备的喹啉季铵盐 B 按摩尔比 1:1 混合加入苯和正丁醇的混合溶液中,其中苯和正丁醇的体积比为 1:1,同时加入 0.5mL 喹啉,共沸蒸馏去水,反应 24h,减压蒸馏除去有机溶剂苯和正丁醇,硅胶柱层析,其中,乙醇、二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 (1 ~ 4):3:(1 ~ 5),再用乙醇重结晶,得非对称水溶性喹啉方酸菁染料 ;

所述步骤(2)中的喹啉季铵盐 A 和喹啉季铵盐 B 为步骤(1)中所制备的两种不同取代基的喹啉季铵盐。

喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料及其制备和应用

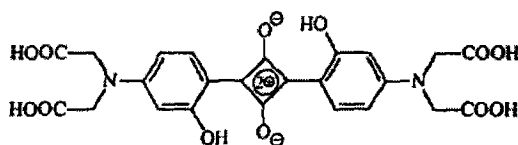
技术领域

[0001] 本发明属水溶性近红外发光方酸菁染料及其制备和应用领域,特别是涉及喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料及其制备和应用。

背景技术

[0002] 自从 1965 年 Triebbs 和 Jacob 首次报道了用吡啶和方酸合成了第一个难溶的吡啶方酸菁染料以来,方酸菁染料以其独特的 D- π -A- π -D 型共轭体系的两性离子结构,具有良好的光电性质,如强吸光度 ($\epsilon \geq 10^5 \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)、吸收或发射波长范围广(从可见光到近红外区域)、高吸光系数、高发光量子产率及光稳定性好等引起国内外众多科学者的关注和重视。新型多功能的方酸菁染料不断被报道设计合成,已广泛应用于荧光标记、生物探针等领域。如:1997 年, Yasemin G 等人合成了 N, N'-二羧基取代的苯胺类方酸菁染料,结构式为:

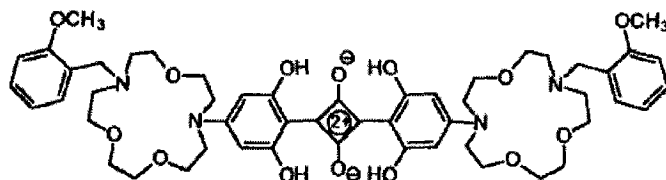
[0003]



[0004] 以其水溶性好,对氢离子相应灵敏度高等优点,是很好的氢离子荧光探针。

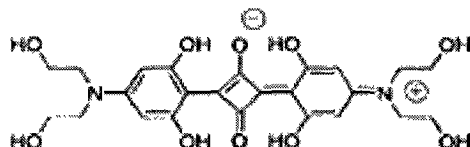
[0005] 1998 年,Umut Oguz a 等人含冠醚的方酸菁染料,并用于选择性检测 Na 离子,其结构为:

[0006]



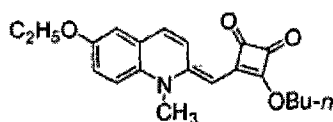
[0007] 2005 年, Karl J. Wallace 等人报道合成了含羟基的方酸菁染料,能有效地与铁离子配位,用于对 Fe 离子的分析检测,其结构为:

[0008]



[0009] 2007 年, Rekha R. Avirah 等报道合成了含喹啉的半方酸菁染料,应用于 Hg^{2+} 的检测,效果明显,该染料的结构式为:

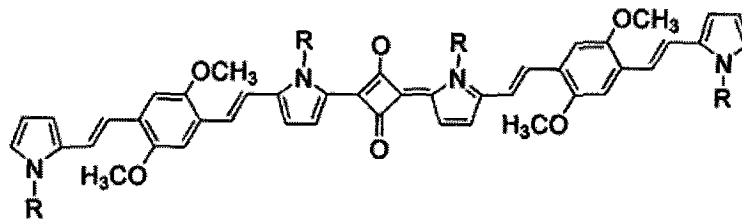
[0010]



[0011] 但上述方酸菁染料无论是吸收波长还是发光波长范围都很小 (500 ~ 650nm), 仅限于可见光范围内, 且 Stokes 位移小 ($\leq 30\text{nm}$), 激发光谱与发射光谱的重叠较多, 染料的自吸收程度高, 激发光与发射光之间的相互干扰及背景干扰等严重, 很难在生物环境中进行分析、检测。

[0012] 2008 年, Sivaramapanicker Sreejith 等报道合成了可用于生物背景中分析检测人血浆中硫醇含量的近红外发光方酸菁染料, 有效地克服了背景干扰, 实现了生物环境下巯基 (SH) 的分析、监测, 该近红外方酸菁结构为:

[0013]



[0014] 但该染料的 Stokes 位移仍较小, 存在激发光谱与发射光谱的重叠及染料的自吸收等缺点, 分析的灵敏度待进一步提高。

[0015] 综上所述, 方酸菁染料是一类非常重要的有机功能染料, 它与现代高新技术紧密相联系。随着方酸菁染料地被广泛地开发和应用, 对方酸菁染料的需求标准也将越来越高, 但现有的菁染料一般具有溶解性差、活性键合能力低, 发射波长范围不理想, 稳定性有待进一步提高等缺点, 阻碍其在分析、尤其是生物分析等方面的应用。研究开发新的在近红外波段具有较强发光或吸收、较高稳定性和溶解性的方酸菁染料必将会对分析检测等性能带来巨大影响, 因此合成具有优良性能的新型方酸菁染料仍将是目前研究的热点。

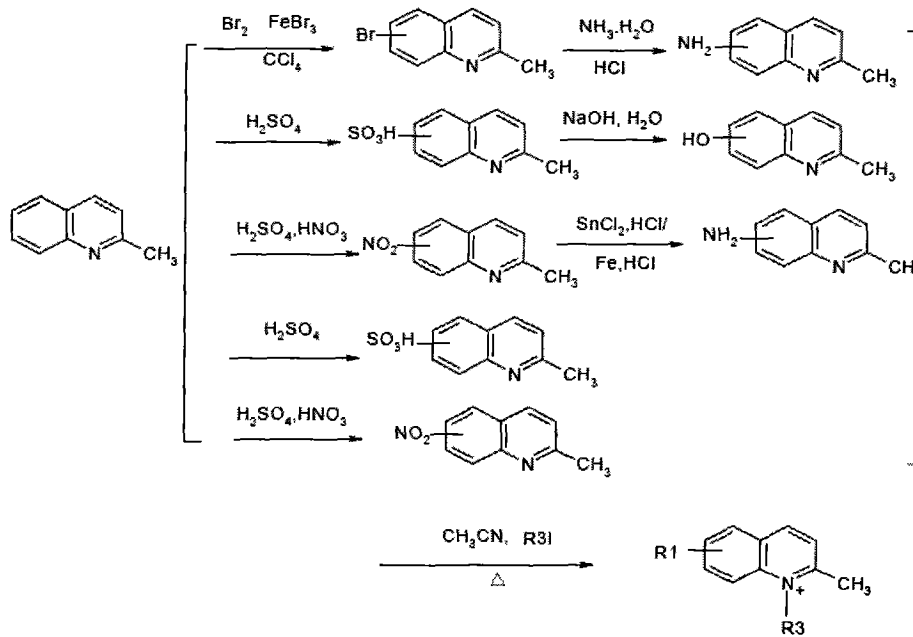
发明内容

[0016] 本发明所要解决的技术问题是提供喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料及其制备和应用, 该类染料的荧光发射波长达 800nm ~ 1160nm 的近红外范围, 对环境、生物组织均具有优良的穿透性, 背景吸收小; 另外, 该染料分子具有较大的 Stokes 位移 ($\Delta > 100\text{nm}$), 激发光谱与发射光谱的重叠较少, 减少了检测中染料的自吸收, 降低了激发光谱与发射光谱之间的相互干扰, 提高荧光分析检测的灵敏度, 可达 10^{-10}mol/L 以上。该染料应用于荧光标记与探针以及生物免疫分析、检测、新药物开发等领域。

[0017] 本发明的化学反应方程式, 如下:

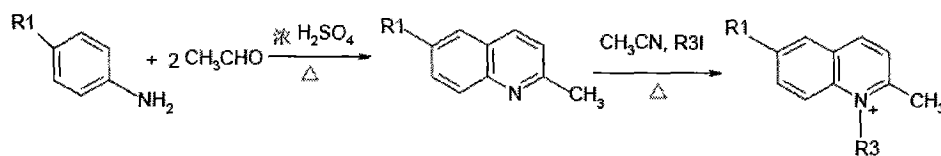
[0018] (1) 喹啉季铵盐的制备

[0019]



[0020] 其中, $R_1 = \text{NO}_2, \text{OH}, \text{NH}_2$ 或 SO_3H ; $R_3 = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

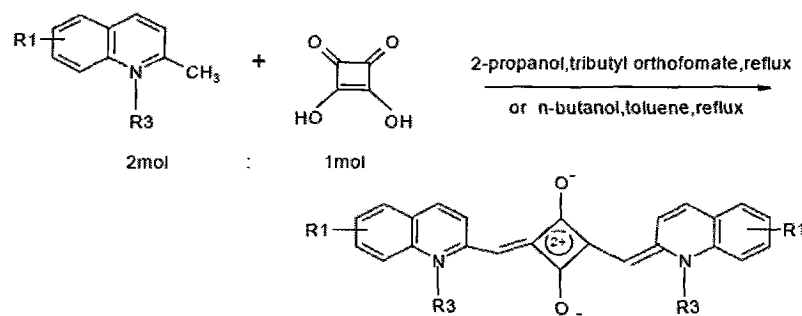
[0021]



[0022] 其中, $R_1 = \text{PO}_4\text{H}_2, \text{COOH}$ 或 $-\text{CN}$; $R_3 = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0023] (2) 对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

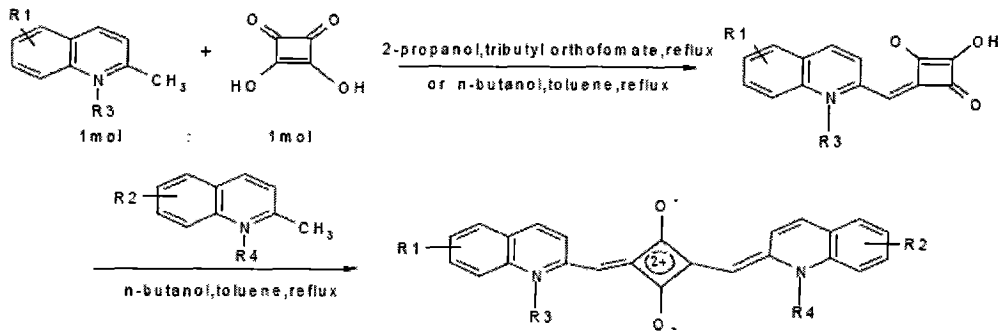
[0024]



[0025] 其中, $R_1 = \text{NO}_2, \text{OH}, \text{NH}_2, \text{SO}_3\text{H}, \text{PO}_4\text{H}_2, \text{COOH}$ 或 $-\text{CN}$; $R_3 = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0026] (3) 不对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

[0027]

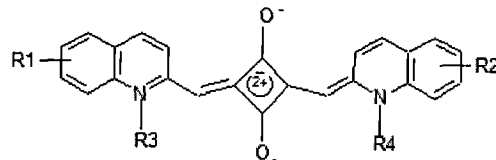


[0028] 其中, R_1 或 $R_2 = \text{NO}_2, \text{OH}, \text{NH}_2, \text{SO}_3\text{H}, \text{PO}_4\text{H}_2, \text{COOH}$ 或 $-\text{CN}$ 等;

[0029] R_3 或 $R_4 = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0030] 本发明的喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子结构通式如下:

[0031]



[0032] 其中, R_1 或 $R_2 = \text{NO}_2, \text{OH}, \text{NH}_2, \text{SO}_3\text{H}, \text{PO}_4\text{H}_2, \text{COOH}$ 或 $-\text{CN}$ 等;

[0033] R_3 或 $R_4 = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数;

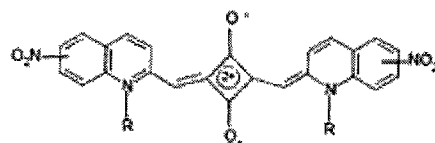
[0034] 性状:深灰色至黑色固体,熔点在 $200 \sim 390^\circ\text{C}$ 范围内。

[0035] 所述的喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料为对称或非对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料;

[0036] 所述的对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其结构式中 $R_1 = R_2$ 且 $R_3 = R_4$;

[0037] 所述的非对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其结构式中 $R_1 \neq R_2$ 且 $R_3 \neq R_4$;所述的对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料为含硝基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子式为 $:\text{C}_{22}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{N}_4\text{R}_2$, 结构式为:

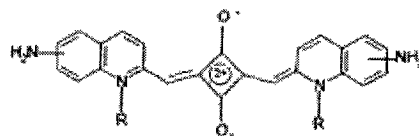
[0038]



[0039] 其中, $R = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0040] 所述的对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料为含氨基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子式为 $:\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_4\text{R}_2$, 结构式为:

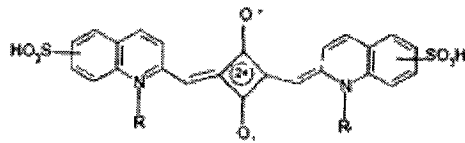
[0041]



[0042] 其中, $R = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0043] 所述的对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料为含磺酸基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子式为 : $C_{22}H_{14}O_8S_2N_2R_2$, 结构式为 :

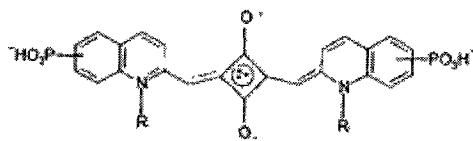
[0044]



[0045] 其中, $R = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0046] 所述的对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料为含磷酸基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子式为 : $C_{22}H_{16}O_8N_2P_2R_2$, 结构式为 :

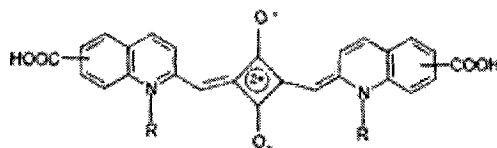
[0047]



[0048] 其中, $R = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0049] 所述的对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料为含羧基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料,其分子式为 : $C_{24}H_{14}O_8N_2R_2$, 结构式为 :

[0050]



[0051] 其中, $R = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数。

[0052] 所述的方酸菁发光材料的发光波长为 800nm ~ 1160nm ;

[0053] 本发明的喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备方法,包括 :

[0054] (1) 苯环上含有取代基的喹啉季胺盐的制备

[0055] I 喹啉衍生物的制备

[0056] ①磺化

[0057] 将 2- 甲基喹啉与浓硫酸按体积比 1 : 5 混合,控制反应温度在 220℃ 以下,反应 3h,在冰水浴条件下用 NaOH 中和部分硫酸,调节 pH 为 5.8 ~ 6.2,用二氯甲烷萃取 20mL × 5,合并有机相,减压蒸馏,再以硅胶为载体,二氯甲烷 / 乙酸乙酯体积比 3 : 1 为洗脱剂进行分离,得到 5- 磺酸基 -2- 甲基喹啉 (45 ~ 50%) 和 6- 磺酸基 -2- 甲基喹啉 (14 ~ 20%) ;

[0058] 或②硝化

[0059] 将 2- 甲基喹啉、浓硝酸和浓硫酸按体积比 1 : 5 : 5 混合,控制反应温度在 10℃ 以下,反应 4h,在冰水浴条件下用 NaOH 溶液调节 pH 值 3 ~ 4,待有大量白色沉淀生成,抽滤,再以硅胶为载体,石油醚 / 乙酸乙酯体积比 4 : 1 为洗脱剂进行分离,分别得到 5- 硝基 -2- 甲基喹啉,产率 :75% 和 6- 硝基 -2- 甲基喹啉,产率 :10%;或改变温度为 60℃,其它条件相同,分别得到 5- 硝基 -2- 甲基喹啉,产率 :45% 和 6- 硝基 -2- 甲基喹啉,产率 :52% ;

[0060] 或③取②所制备的 5 或 6-硝基-2-甲基喹啉、铁粉和醋酸按摩尔比 1 : 4 : 6 混合 (醋酸的浓度为体积比 1 : 1), 搅拌条件下回流 1h, 加入 NaCO_3 调节呈碱性 (pH8 ~ 9), 用二氯甲烷萃取有机相, 减压蒸馏, 除去有机溶剂, 再经硅胶柱层析分离, 石油醚 / 乙酸乙酯体积比 1 : 4, 分别得 5-氨基-2-甲基喹啉和 6-氨基-2-甲基喹啉;

[0061] 或④将对磷酸基苯胺与无水乙醛按摩尔比 1 : 2 混合, 并加入 2mL 浓硫酸, 回流搅拌 4.5h, 用 NaOH 中和部分硫酸, 调节 pH 为 6.8 ~ 7.2, 减压蒸出部分是水, 用二氯甲烷萃取 20mL×5, 合并有机相, 减压蒸馏, 再以硅胶为载体, 二氯甲烷 / 乙酸乙酯体积比 3 : 1 为洗脱剂进行分离, 得到 6-磷酸基-2-甲基喹啉;

[0062] 或⑤将对膦基苯胺与无水乙醛按摩尔比 1 : 2 混合, 并加入 2mL 浓硫酸, 回流搅拌 5.0h, 用 NaOH 中和部分硫酸, 调节 pH 为 6.8 ~ 7.2, 减压蒸出部分是水, 用二氯甲烷萃取 20mL×5, 合并有机相, 减压蒸馏, 再以硅胶为载体, 二氯甲烷 / 乙酸乙酯体积比 2 : 1 为洗脱剂进行分离, 得到 6-膦基-2-甲基喹啉; 再将 0.015mol 6-膦基-2-甲基喹啉与 20mL 0.05mol/L NaOH 混合, 室温下搅拌反应 24h, 用稀盐酸调节 pH 值, 有大量沉淀生成, 过滤, 再以硅胶为载体, 二氯甲烷 / 乙酸乙酯体积比 1 : 1 为洗脱剂分离, 得到 6-羧基-2-甲基喹啉;

[0063] II 喹啉季铵盐的制备

[0064] 将上述 I 中制备的喹啉衍生物与碘代酸按摩尔比 1 : 1.1 混合, 再加入 20mL 乙腈、回流加热 12h, 待有大量沉淀生成, 抽滤, 乙醚洗涤后, 硅胶柱层析, 乙醇 / 二氯甲烷体积比 1 : (1.5 ~ 3), 得喹啉季铵盐;

[0065] 所述的碘代酸为碘甲酸、碘乙酸、正碘代丙酸等;

[0066] (2) 喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

[0067] I 对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

[0068] 将步骤 (1) 所制备的喹啉季铵盐与方酸按摩尔比 2 : 1 混合加入苯和正丁醇的混合溶液中, 其中苯和正丁醇的体积比为 1 : 1, 同时加入 0.5mL 喹啉, 共沸蒸馏去水, 反应 24h, 减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇), 硅胶柱层析, 其中, 乙醇、二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 4 : 3 : 1, 再用乙醇重结晶, 得对称水溶性喹啉方酸菁染料;

[0069] 或 II 非对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的制备

[0070] ①将步骤 (1) 所制备的喹啉季铵盐 A 与方酸按摩尔比 1 : 1 混合加入苯和正丁醇的混合溶液中, 其中苯和正丁醇的体积比为 1 : 1, 同时加入 0.8mL 喹啉, 共沸蒸馏去水, 反应 24h, 减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇), 硅胶柱层析, 其中, 乙醇、二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 (1 ~ 4) : 3 : (1 ~ 5), 得半方酸菁染料;

[0071] ②取半方酸菁染料与步骤 (1) 所制备的喹啉季铵盐 B 按摩尔比 1 : 1 混合加入苯和正丁醇的混合溶液中, 其中苯和正丁醇的体积比为 1 : 1, 同时加入 0.5mL 喹啉, 共沸蒸馏去水, 反应 24h, 减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇), 硅胶柱层析, 其中, 乙醇、二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 (1 ~ 4) : 3 : (1 ~ 5), 再用乙醇重结晶, 得非对称水溶性喹啉方酸菁染料。

[0072] 所述步骤 (2) 中的喹啉季铵盐 A 和喹啉季铵盐 B 为步骤 (1) 中所制备的两种不同取代基的喹啉季铵盐。

[0073] 本发明的喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料应用于新药物开发、荧光标记与探

针以及生物免疫分析、检测等领域。

[0074] 本发明选用生物活性高、刚性强、共轭体系较大的芳香杂环喹啉为前体,与具有芳香性的方酸四元环共轭,同时在喹啉环的氮原子上引入体积较大的活性羧基、酯基,可与方酸四元环上的氧原子形成分子内 H 键,限制两环平面的转动,增加了平面共轭性,大大增强了其光稳定性及与其它材料的相容性等。

[0075] 同时,在喹啉基的苯环的上 5、6 位上引入带有 π 键或含有孤对电子的硝基、羟基、氨基、腈基、磺酸基、磷酸基、羧基等基团,增加了方酸菁体系的共轭电子云密度或共轭长度,使该类染料的荧光发射波长达 800nm ~ 1160nm 的近红外范围,对环境、生物组织均具有优良的穿透性,背景吸收小(生物组织及环境对该波段光吸收较小或者不吸收);另外,该染料分子具有较大的 Stokes 位移($\Delta > 100\text{nm}$),激发光谱与发射光谱的重叠较少,减少了检测中染料的自吸收,降低了激发光谱与发射光谱的之间的相互干扰,提高荧光分析检测的灵敏度,可达 10^{-10}mol/L 以上。

[0076] 有益效果

[0077] (1) 本发明制备的方酸菁染料具有稳定性高,与其他材料相容性好等有点;

[0078] (2) 该染料的荧光发射波长在近红外区域,对环境、生物组织均具有优良的穿透性,减少自吸收和背景吸收,荧光分析的灵敏度可达 10^{-10}mol/L ,如对溶液中小牛胸腺 DNA 的检出限为 $1.2 \times 10^{-10}\text{mol/L}$;

[0079] (3) 该制备方法简单易行,成本低,经济效益好,适用于工业化生产。

附图说明

[0080] 图 1 为喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的分子结构通式;

[0081] 图 2 为实施例 1 所制备的 5-硝基-2-甲基喹啉和 2-甲基喹啉红外光图谱;

[0082] 图 3 为实施例 1 所制备的 5-硝基-2-甲基喹啉核磁氢谱图;

[0083] 图 4 为实施例 1 所制备的 N-羧丙基 5-硝基-2-甲基喹啉盐的红外光图谱;

[0084] 图 5 为实施例 1 所制备的 N-羧丙基 5-硝基-2-甲基喹啉对称方酸菁染料的红外光图谱;

[0085] 图 6 为实施例 1 所制备的 N-羧丙基 5-硝基-2-甲基喹啉对称方酸菁染料的核磁氢谱图;

[0086] 图 7 为 pH 对实施例 1 所制备的喹啉对称方酸菁染料荧光光谱的影响分析图,其中 $c_{\text{sample}} = 1.2 \times 10^{-5}\text{M}$;

[0087] 图 8 为溶剂对实施例 1 所制备的喹啉对称方酸菁染料荧光光谱的影响分析图,其中 $c_{\text{sample}} = 1.2 \times 10^{-5}\text{M}$;

[0088] 图 9 为实施例 1 所制备的 N-羧丙基 5-硝基-2-甲基喹啉对称方酸菁染料的核磁氢谱图。

具体实施方式

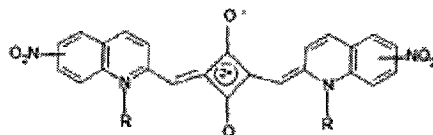
[0089] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明讲授的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定

的范围。

[0090] 实施例 1

[0091] 含硝基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的合成,其分子式为:
 $C_{22}H_{12}O_6N_4R_2$, 结构式为:

[0092]



[0093] 其中, $R = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数, 性状为褐色至深褐色固体, 熔点在 $330 \sim 356^\circ C$ 范围。

[0094] 将配有冷凝管、温度计和恒压滴液漏斗的 100mL 三口烧瓶在冰水浴及磁力搅拌条件下, 加入 10mL 浓硝酸和 10mL 浓硫酸, 充分搅拌下缓慢滴加 2mL 2-甲基喹啉, 控制反应温度在 $10^\circ C$ 以下, 待反应物全部加入后, 继续反应 4h, 在冰水浴条件下用 NaOH 溶液调节 pH 值 $3 \sim 4$, 有大量白色沉淀生成, 抽滤, 再以硅胶为载体, 石油醚 / 乙酸乙酯 (4 : 1) 为洗脱剂分离, 分别得到 5-硝基-2-甲基喹啉 (yield: 75%) 和 6-硝基-2-甲基喹啉 (yield: 10%)。改变温度为 $60^\circ C$, 其它条件相同, 分别得到 5-硝基-2-甲基喹啉 (yield: 45%) 和 6-硝基-2-甲基喹啉 (yield: 52%), 具体数据特征见图 2 和图 3。

[0095] 称取硝基取代喹啉衍生物 0.01mol, 加入 100mL 三口烧瓶中, 再依次加入 20mL 乙腈、0.015mol 碘代酸 (如, 碘甲酸、碘乙酸、正碘代丙酸等), 回流加热 12h, 有大量沉淀生成, 抽滤, 乙醚洗涤后, 硅胶柱层析 (乙醇 / 二氯甲烷 (1 : 3)) 得对应季铵盐 (55 ~ 64%), 红外光谱分析见图 4。

[0096] 将 0.06mmol 对应季铵盐, 0.03mmol 方酸和 0.5mL 喹啉依次加入含 6mL 苯和 6mL 正丁醇的混合液中, 共沸蒸馏去水, 反应 24h, 减压蒸馏出有机溶剂 (苯和正丁醇), 硅胶柱层析 (乙醇 : 二氯甲烷 : 乙酸乙酯 = 1 : 3 : 5), 再用乙醇重结晶, 得对应的含硝基对称水溶性喹啉方酸菁染料 (70 ~ 86%), 具体数据特征见图 5, 图 6 和图 7。

[0097] 含硝基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料在不同溶剂中的光谱数据, 见表 1:

[0098] 表 1. 目标方酸菁染料在不同溶剂中的光谱数据 ($c_{\text{sample}} = 1.2 \times 10^{-5} M$)

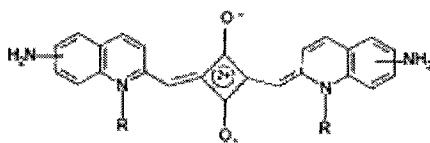
[0099]

Solvent	λ_{em}/nm	λ_{ex}/nm	Stokes shift/nm	$\epsilon(10^{-5} mol^{-1} \cdot cm^{-1} \cdot L)$	ϕ
Water	806	691	115	5.46	0.115
Ethanol	811	694	117	5.24	0.168
DMF	815	701	114	5.08	0.202
MSO	817	703	114	5.30	0.189
THF	825	713	112	5.22	0.172

[0100] 实施例 2

[0101] 含氨基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的合成其分子式为:
 $C_{22}H_{16}O_2N_4R_2$, 结构式为:

[0102]



[0103] 其中, $R = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数, 性状为深灰色至褐色固体, 熔点在 $293 \sim 324^\circ\text{C}$ 范围。

[0104] 在 100mL 三口烧瓶中, 加入 0.04mol 铁粉和 40mL 水, 再加入 2mL 冰醋酸, 在回流条件下小火煮沸 5min, 稍冷, 滴加 0.01mol 5 或 6- 硝基 -2- 甲基喹啉, 搅拌条件下回流 1h, 加入 NaCO_3 调节呈碱性, 用二氯甲烷萃取有机相, 减压蒸馏, 除去有机溶剂 (二氯甲烷和少量冰醋酸), 再经硅胶柱层析分离 [石油醚 / 乙酸乙酯 (1 : 4)], 得对应氨基衍生物 [5- 氨基 -2- 甲基喹啉 (yield:64%) 和 6- 氨基 -2- 甲基喹啉 (yield:28%)]。

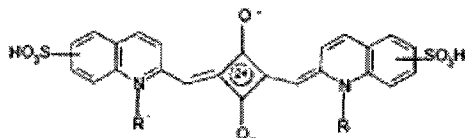
[0105] 称取氨基取代喹啉衍生物 0.01mol, 加入 100mL 三口烧瓶中, 再依次加入 20mL 乙腈、0.015mol 碘代酸 (如, 碘甲酸、碘乙酸、正碘代丙酸等), 回流加热 12h, 有大量沉淀生成, 抽滤, 乙醚洗涤后, 硅胶柱层析 (乙醇 / 二氯甲烷 (1 : 2)) 得对应季铵盐 (56 ~ 62%)。

[0106] 将 0.06mmol 对应季铵盐, 0.03mmol 方酸和 0.5mL 喹啉依次加入含 6mL 苯和 6mL 正丁醇的混合液中, 共沸蒸馏去水, 反应 24h, 减压蒸馏除去有机溶剂, 硅胶柱层析 (乙醇 : 二氯甲烷 : 乙酸乙酯 = 2 : 3 : 1), 再用乙醇重结晶, 得对应含氨基基对称水溶性喹啉方酸菁染料 (70-87%)。

[0107] 实施例 3

[0108] 含磺酸基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的合成其分子式为: $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{S}_2\text{N}_2\text{R}_2$, 结构式为:

[0109]



[0110] 其中, $R = (\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, $n = 0 \sim 7$ 整数, 性状为黑色至深褐色固体, 熔点在 $341 \sim 365^\circ\text{C}$ 范围。

[0111] 将配有冷凝管、温度计和恒压滴液漏斗的 100mL 三口烧瓶在冰水浴及磁力搅拌条件下, 20mL 浓硫酸, 充分搅拌下缓慢滴加 2mL (0.016mol) 2- 甲基喹啉, 控制反应温度在 220°C 一下, 待反应物全部加入后, 继续反应 3h, 在冰水浴条件下用 NaOH 中和部分硫酸, 使 $\text{pH} \approx 6.0$, 用二氯甲烷萃取 (20mL \times 5), 合并有机相, 减压蒸馏, 再以硅胶为载体, 二氯甲烷 / 乙酸乙酯 (3 : 1) 为洗脱剂分离, 分别得到 5- 磺酸基 -2- 甲基喹啉 (yield:42%) 和 6- 磺酸基 -2- 甲基喹啉 (yield:20%)。

[0112] 称取磺酸基取代喹啉衍生物 0.01mol, 加入 100mL 三口烧瓶中, 再依次加入 20mL 乙腈、0.015mol 碘代酸 (如, 碘甲酸、碘乙酸、正碘代丙酸等), 回流加热 12h, 有大量沉淀生成, 抽滤, 乙醚洗涤后, 硅胶柱层析 (乙醇 / 二氯甲烷 (1 : 3)) 得对应季铵盐 (45-59%)。

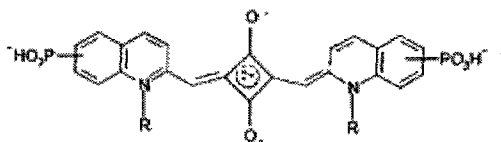
[0113] 将 0.06mmol 对应季铵盐, 0.03mmol 方酸和 0.5mL 喹啉依次加入含 6mL 苯和 6mL 正丁醇的混合液中, 共沸蒸馏去水, 反应 24h, 减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇), 硅胶柱

层析(乙醇:二氯甲烷:乙酸乙酯=4:3:1),再用乙醇重结晶,得对应含磺酸基对称水溶性喹啉方酸菁染料(70~86%)。

[0114] 实施例 4

[0115] 含磷酸基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的合成,其分子式为: $C_{22}H_{16}O_8N_2P_2R_2$,结构式为:

[0116]



[0117] 其中, $R = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数,性状为深灰色至深褐色固体,熔点在 $351 \sim 380^\circ C$ 范围。

[0118] 向配有冷凝管、温度计和恒压滴液漏斗的 100mL 三口烧瓶中 0.02mol 对磷酸基苯胺,2mL 浓硫酸,充分搅拌下缓慢滴加 0.04mol 无水乙醛,回流搅拌 4.5h,用 NaOH 中和部分硫酸,使 $pH \approx 7.0$,减压蒸出部分溶剂(主要是水),用二氯甲烷萃取(20mL \times 5),合并有机相,减压蒸馏,再以硅胶为载体,二氯甲烷/乙酸乙酯(3:1)为洗脱剂分离,得到 6-磷酸基-2-甲基喹啉(yield:47%)。

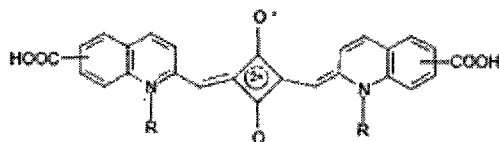
[0119] 称取磷酸基取代喹啉衍生物 0.01mol,加入 100mL 三口烧瓶中,再依次加入 20mL 乙腈、0.015mol 碘代酸(如,碘甲酸、碘乙酸、正碘代丙酸等),回流加热 12h,有大量沉淀生成,抽滤,乙醚洗涤后,硅胶柱层析(乙醇/二氯甲烷(1:3))得对应季铵盐(50~59%)。

[0120] 将 0.06mmol 对应季铵盐,0.03mmol 方酸和 0.5mL 喹啉依次加入含 6mL 苯和 6mL 正丁醇的混合液中,共沸蒸馏去水,反应 24h,减压蒸馏除去有机溶剂(苯和正丁醇),硅胶柱层析(乙醇:二氯甲烷:乙酸乙酯=4:3:1),再用乙醇重结晶,得含磷酸基对称水溶性喹啉方酸菁染料(75~89%)。

[0121] 实施例 5

[0122] 含羧基对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的合成,其分子式为: $C_{24}H_{14}O_6N_2R_2$,结构式为:

[0123]



[0124] 其中, $R = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数,性状为深灰色至褐色固体,熔点在 $327 \sim 349^\circ C$ 范围。

[0125] 向配有冷凝管、温度计和恒压滴液漏斗的 100mL 三口烧瓶中 0.02mol 对腈基苯胺,2mL 浓硫酸,充分搅拌下缓慢滴加 0.04mol 无水乙醛,回流搅拌 5.0h,用 NaOH 中和部分硫酸,使 $pH \approx 7.0$,减压蒸出部分溶剂(主要是水),用二氯甲烷萃取(20mL \times 5),合并有机相,减压蒸馏,再以硅胶为载体,二氯甲烷/乙酸乙酯(2:1)为洗脱剂分离,分别得到 6-腈基-2-甲基喹啉(yield:56%)。

[0126] 向配有冷凝管圆底烧瓶中依次加入 20mL 0.05mol/L NaOH 溶液,0.015mol 腈基取代

喹啉衍生物,室温下搅拌反应 24h,用稀盐酸调节 pH 值,有大量沉淀生成,过滤,再以硅胶为载体,二氯甲烷 / 乙酸乙酯 (1 : 1) 为洗脱剂分离,得到 6- 羧基 -2- 甲基喹啉 (yield: 51%)。

[0127] 称取羧基取代喹啉衍生物 0.01mol,加入 100mL 三口烧瓶中,再依次加入 20mL 乙腈、0.015mol 碘代酸 (如,碘甲酸、碘乙酸、正碘代丙酸等),回流加热 12h,有大量沉淀生成,抽滤,乙醚洗涤后,硅胶柱层析 (乙醇 / 二氯甲烷 (2 : 3)) 得对应季铵盐 (46 ~ 57%)。

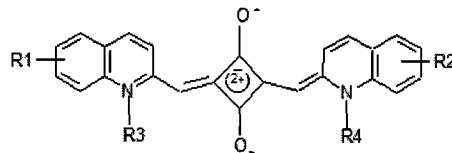
[0128] 将 0.06mmol 对应季铵盐和 0.5mL 喹啉依次加入含 6mL 苯和 6mL 正丁醇的混合液中,共沸蒸馏去水,反应 24h,减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇),硅胶柱层析 (乙醇 : 二氯甲烷 : 乙酸乙酯 = 4 : 3 : 2),再用乙醇重结晶,得含羧基对称水溶性喹啉方酸菁染料 (75 ~ 83%)。

[0129] 实施例 6

[0130] 不对称喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料的合成

[0131] 其分子式为 : $C_{22}H_{12}O_2N_2R_1R_2R_3R_4$, 结构式为 :

[0132]



[0133] 其中, R_1 或 $R_2 = NO_2, OH, NH_2, SO_3H, PO_4H_2, COOH$ 或 $-CN$ 等, R_3 或 $R_4 = (CH_2)_nCOOH$, $n = 0 \sim 7$ 整数,性状为深灰色至黑色固体,熔点在 $302-395^\circ C$ 范围。

[0134] 分别称取实施例 1、实施例 2、实施例 3、实施例 4、实施例 5 中各取代基喹啉季铵盐 0.05mmol, 0.05mmol 方酸和 0.8mL 喹啉依次加入含 9mL 苯和 9mL 正丁醇的混合液中,共沸蒸馏去水,反应 24h,减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇),硅胶柱层析硅胶柱层析分离 (乙醇 : 二氯甲烷 : 乙酸乙酯 = (1 ~ 4) : 3 : (1 ~ 5)),得对应半方酸菁染料 (77 ~ 86%)。

[0135] 分别称取上述半方酸菁染料各 0.03mmol, 0.5mL 喹啉, 6mL 苯和 6mL 正丁醇于 100mL 烧瓶中,再以正交不重叠的方式加入实施例 1、实施例 2、实施例 3、实施例 4、实施例 5 中各取代基喹啉季铵盐 0.03mmol,共沸蒸馏去水,反应 12h,减压蒸馏除去有机溶剂 (苯和正丁醇),硅胶柱层析 (乙醇 : 二氯甲烷 : 乙酸乙酯 = (1 ~ 4) : 3 : (1 ~ 5)),再用乙醇重结晶,得各种不同的不对称方酸菁染料 (67% ~ 90%)。

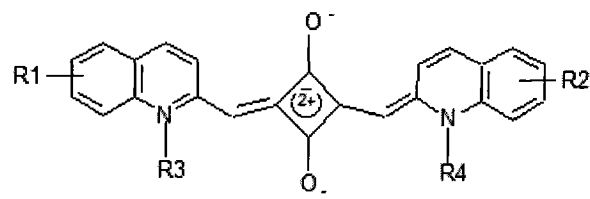


图 1

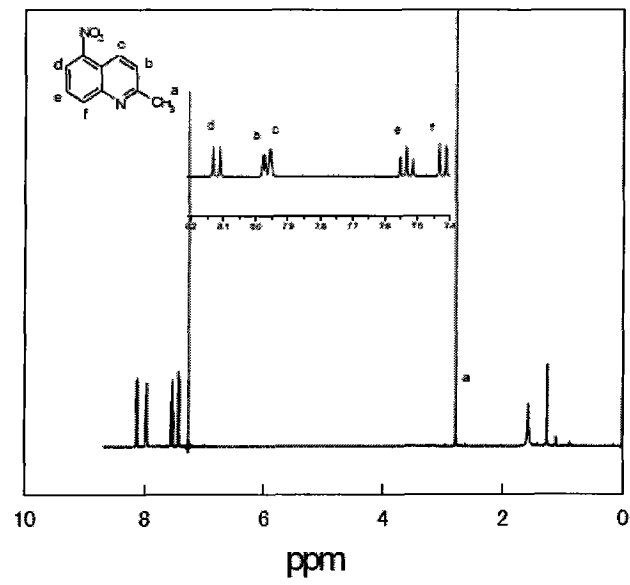


图 2

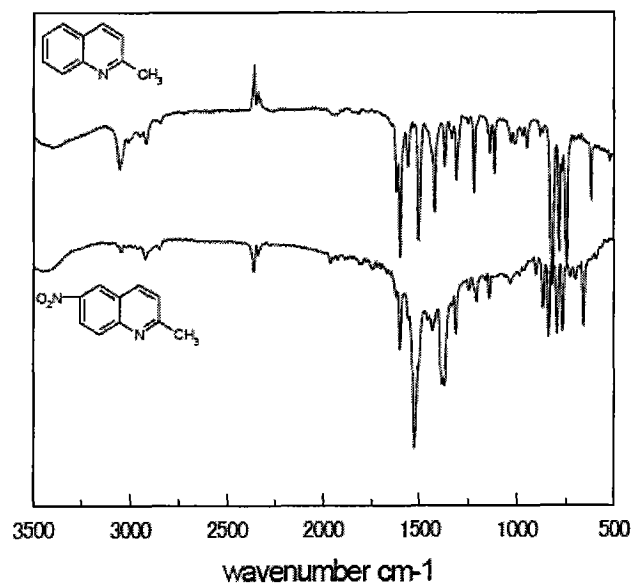


图 3

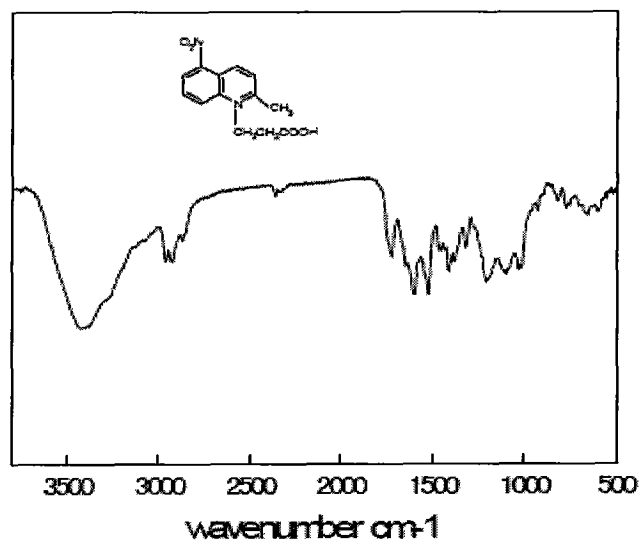


图 4

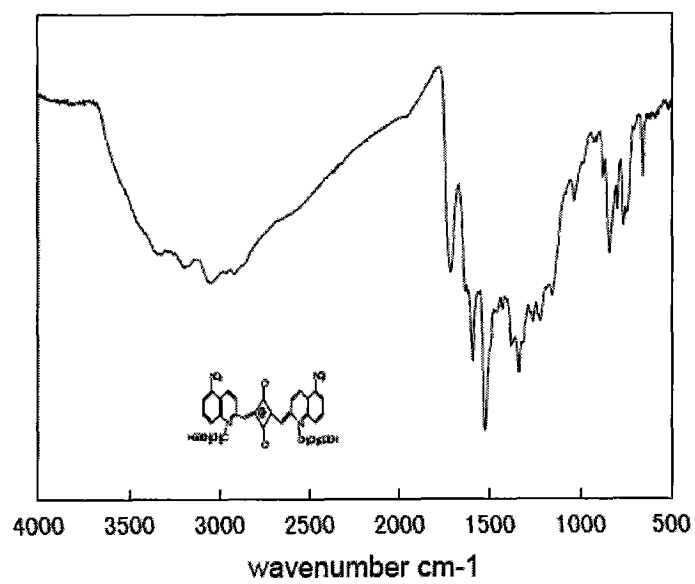


图 5

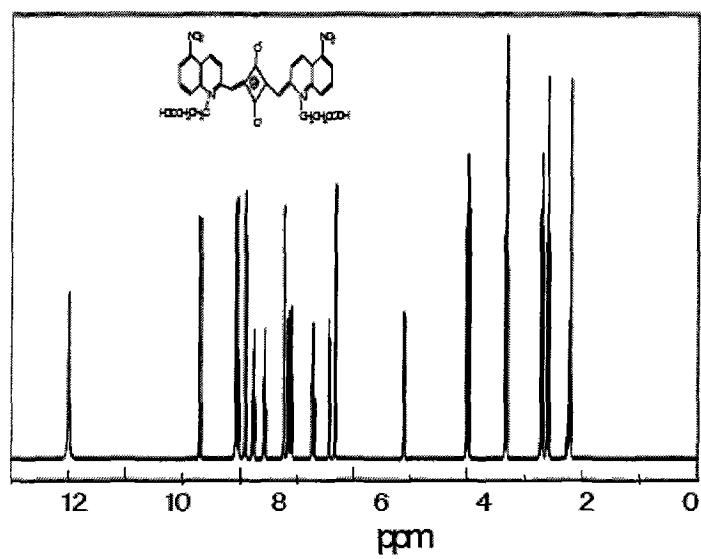


图 6

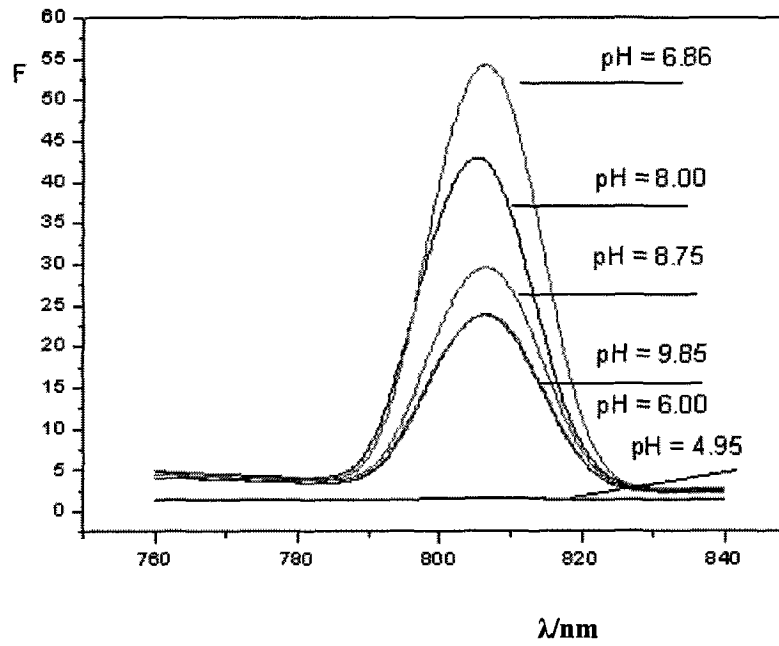


图 7

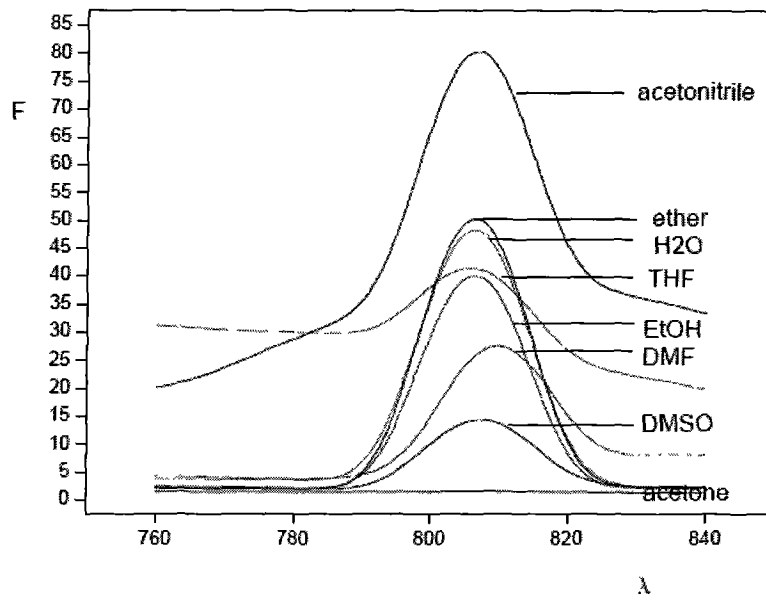


图 8

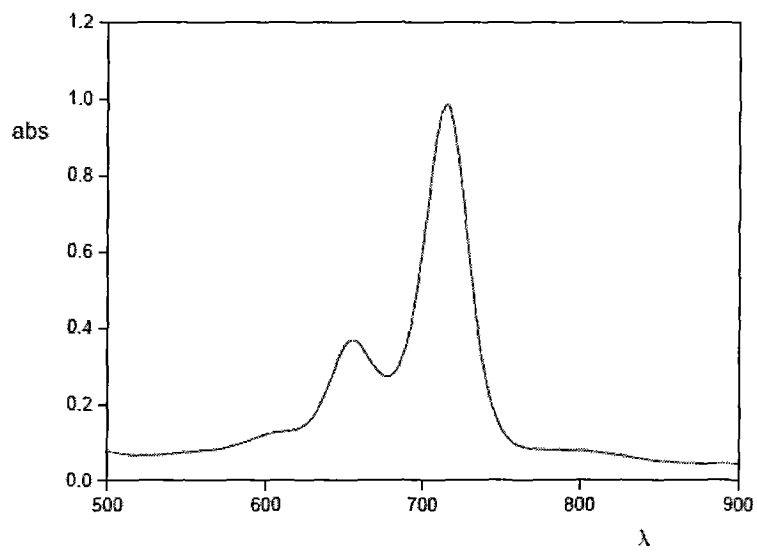


图 9

专利名称(译)	喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料及其制备和应用		
公开(公告)号	CN101544844B	公开(公告)日	2013-01-16
申请号	CN200910050048.2	申请日	2009-04-27
[标]申请(专利权)人(译)	东华大学		
申请(专利权)人(译)	东华大学		
当前申请(专利权)人(译)	东华大学		
[标]发明人	徐洪耀 严正权 陈玉风 光善仪		
发明人	徐洪耀 严正权 陈玉风 光善仪		
IPC分类号	C09B57/00 C09K11/06 G01N33/53 G01N21/64		
代理人(译)	黄志达 谢文凯		
审查员(译)	吴宏霞		
其他公开文献	CN101544844A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及喹啉类水溶性近红外发光方酸菁染料，其分子结构通式如摘要附图所示。其制备包括：将2-甲基喹啉进行溴代、磺化、硝化、酰基化，再在乙腈与碘代酸或碘代酸酯作用生成喹啉季胺盐；将喹啉季胺盐与方酸混合，共沸蒸馏去水，减压蒸馏，硅胶柱层析，再用乙醇重结晶，得水溶性喹啉方酸菁染料；该染料应用于新药物开发、荧光标记与探针以及生物免疫分析、检测等领域。本发明的喹啉方酸菁染料其荧光发射波长在近红外区域，对环境、生物组织均具有优良的穿透性，减少自吸收和背景吸收，荧光分析的灵敏度可达10⁻¹⁰mol/L；该制备方法简单易行，成本低，经济效益好，适用于工业化生产。

