

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102702768 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 03

(21) 申请号 201210180810. 0

(22) 申请日 2012. 06. 04

(71) 申请人 天津理工大学

地址 300384 天津市西青区宾水西道 391 号
天津理工大学主校区科技处

(72) 发明人 曾林涛 查佳玉 王秋生

(74) 专利代理机构 天津佳盟知识产权代理有限公司 12002

代理人 侯力

(51) Int. Cl.

C09B 23/04 (2006. 01)

C09K 11/06 (2006. 01)

C12Q 1/02 (2006. 01)

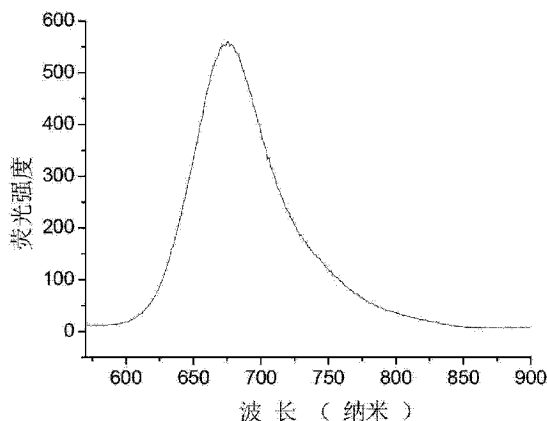
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 4 页

(54) 发明名称

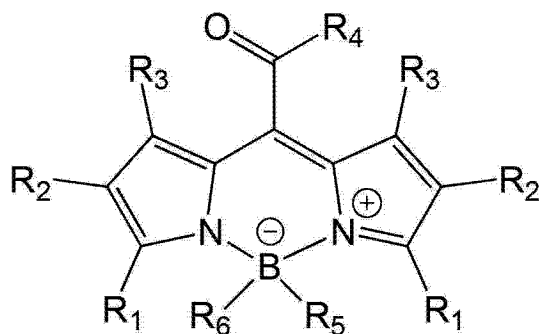
一种新型红光 BODIPY 荧光染料及其制备方法和应用

(57) 摘要

一种新型红光 BODIPY 荧光染料, 化学式为 $C_{10+m}H_{7+n}BF_2N_{2+x}O_y$, 其中 m, n, x, y 均为 0-100 的整数; 其制备方法是: 将带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯溶解在有机溶剂中, 在通氮气下加入乙醛酸乙脂, 以三氟乙酸或对甲苯磺酸作为催化剂进行反应, 然后加入 2, 3- 二氯 -5, 6- 二氰基 -1, 4- 苯醌氧化脱氢, 最后加入有机胺和三氟化硼乙醚溶液继续反应, 将反应液浓缩后, 利用硅胶柱层析得到目标物; 该荧光染料可用于细胞成像、荧光探针或激光染料。本发明的优点是: 该荧光染料的紫外可见吸收光谱和荧光发射光谱窄、荧光量子效率高、光稳定性好; 该荧光染料分子结构简单、合成方法简便, 使得其极易实际推广应用。



1. 一种新型红光 BODIPY 荧光染料,其特征在于:化学式为 $C_{10+m}H_{7+n}BF_2N_{2+x}O_y$,其中 m, n, x, y 均为 0-100 的整数,且分子具有以下结构:



其中: R_1, R_2, R_3 为烷基、芳基、烯基、炔基、酯基、醚基、硫醚基、氰基或卤素原子; R_4 为烷基、芳基、醚基、羟基或氨基; R_5, R_6 为烷基、烷氧基、醚基、硫醚基、炔基或氟原子; \ominus 为负电荷, \oplus 为正电荷。

2. 一种如权利要求 1 所述新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,其特征在于步骤如下:

1) 将带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯溶解在有机溶剂中,在氮气氛围下加入乙醛酸乙脂,得到混合液,混合液中有机溶剂与带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯的体积比为 1-10000 :1,乙醛酸乙脂与带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯的摩尔比为 0.01-0.50 :1;

2) 在氮气保护下,把催化剂滴加到反应液中,在温度为 0-100°C 下反应 3 小时,得到反应液;

3) 在上述反应液中加入 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ),DDQ 与乙醛酸乙脂的摩尔比为 0.01-10.0 :1,氧化脱氢 0.5 小时,得到脱氢液;

4) 在上述脱氢液中依次加入有机胺和三氟化硼乙醚溶液,有机胺与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1-300 :1,三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙脂的摩尔比为 0.1-500 :1,继续反应 1 小时,得到目标溶液;

5) 减压蒸馏除去溶剂后,残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

3. 根据权利要求 2 所述新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,其特征在于:所述的带有取代基为 R^1, R^2, R^3 的吡咯中的取代基 R^1, R^2, R^3 为烷基、芳基、烯基、炔基、酯基、醚基、硫醚基、氰基或卤素原子且直接连接到吡咯环上。

4. 根据权利要求 2 所述新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,其特征在于:所述有机溶剂为二氯甲烷、氯仿、苯、甲苯、二甲苯,乙醚、四氢呋喃、乙酸乙脂、二甲亚砜或二氧六环。

5. 根据权利要求 2 所述新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,其特征在于:所述催化剂为三氟乙酸或对甲苯磺酸。

6. 根据权利要求 2 所述新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,其特征在于:所述有机胺为三乙胺、三甲胺、二异丙基乙胺、二异丙基苯胺或哌啶。

7. 一种如权利要求 1 所述新型红光 BODIPY 荧光染料的应用,其特征在于:用于细胞成像、荧光探针或激光染料,方法是:可将该荧光染料分子溶解在生理盐水或羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)的缓冲水溶液中;或者将该荧光染料分子溶解在甲醇、乙醇、乙腈、二甲亚砜、二甲酰胺等有机溶剂中;或者水和上述有机溶剂任意比例的混合溶剂,然后把溶解有该荧光染料的上述溶液直接用于各种应用场合。

一种新型红光 BODIPY 荧光染料及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及荧光染料及其制备方法和应用,特别是一种新型红光 BODIPY 荧光染料及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 氟化硼络和二吡咯甲川荧光染料(BODIPY)是近年来出现的一类新型荧光染料,它是由二吡咯亚甲基与三氟化硼形成的复合物。该染料分子具有较高的稳定性,可以避免染料自身在荧光分析过程中受激发光的照射、温度的升高或检测环境的改变而导致染料结构迅速降解,也保证了光谱分析信号的稳定性。此外,BODIPY 染料具有荧光量子效率高、吸收光谱和荧光发射光谱窄的优点,因而在生物分析及生物标记时具有很高的灵敏度。

[0003] 1985年,Worries H. J. 和 Koek J. H. 等人合成了2位带有磺酸基团的BODIPY染料,该染料以钠盐形式存在,因此具有很好的水溶性。这是首次成功地在BODIPY染料母体结构中引入了活性基团,为BODIPY染料日后广泛应用于生物分析领域走出了第一步。为了解决BODIPY分子的水溶性,Ziessel R. 等人在BODIPY的2,6位引入季铵盐基团,得到了一系列水溶性好、荧光量子效率高的BODIPY荧光染料。Liu H. Y. 通过在BODIPY的3,5位引入水溶性的聚乙二醇基团,以及用聚乙二醇功能化的炔试剂取代BODIPY中心氟原子,得到一些列水溶性好的荧光染料。

[0004] 近年来,对BODIPY染料的研究倾向于合成长波长的BODIPY染料,因为染料的发射波长较长,光穿透力强,背景干扰小,可以很好地应用于生物分析和生物成像。为了把BODIPY的荧光发射波长调节到近红外区,研究人员主要运用了下列三种方法:

[0005] 1)把吡咯换成异喹啉和咪唑并吡咯来增加分子的 π 共轭结构,并在3位和5位连接芳香取代基。1995年,Haugland R. P. 和 Kang H. C. 采用邻苯二羰基化合物为原料,先与羟胺反应生成异吲哚二甲川中间体,然后与三氟化硼络合,最终得到具有大共轭体系的BODIPY荧光染料。这个系列BODIPY染料母体结构的最大发射波长不到600nm,但将母核的3,5位连上两个噻吩基或有烷基取代的噻吩基以后,最大发射波长甚至超过了700nm,成为近红外荧光染料。但是,这一系列的化合物由于无法引入可连接的基团且染料分子的溶解性很差,难于穿透细胞膜进入细胞组织内,从而阻碍了其在生化领域的应用。

[0006] 2)在BODIPY的 α 位共轭连接推电子的芳香基团。Haugland R. P. 和 Kang H. C. 等人通过乙烯桥将芳香基团与BODIPY染料母体连接起来,得到染料的荧光发射波长为652nm,说明在BODIPY染料母核的2位上引入苯乙烯基,可以使染料的发射波长大大红移。Burgess研究组合成了一系列咪唑并吡咯化合物,并以此为原料与酰氯缩合研发了最大发射波长大于650nm的一类氟硼荧光染料,这类染料减少了分子的扭转程度,从而使其最大发射波长红移。

[0007] 3)用氮原子取代普通BODIPY的8位上碳原子,得到aza-BODIPY。为了设计合成具有大斯托克斯(Stokes)位移、荧光量子效率高、光稳定性好且使BODIPY分子的荧光发射波长到达近红外区,O' Shea' 研究组用氮原子取代普通的BODIPY的8位上碳原子,得到

aza-BODIPY。aza-BODIPY 染料的摩尔消光系数大、荧光量子产率高、荧光光谱半峰宽窄、荧光寿命长和光稳定性好，并且其荧光对溶剂的极性和 pH 均不敏感，是一类可应用于生物领域的荧光染料，极有可能作为光敏剂应用于光动力学治疗。

[0008] 目前大多数 BODIPY 染料的水溶性差，缺少可以用于功能化的基团，因而限制了其在生物学上的进一步应用。为了设计合成水溶性较好，有活性官能团的近红外荧光染料，本发明设计合成了一种结构新颖，性能优良，制备方法简单的新型 BODIPY 荧光染料。

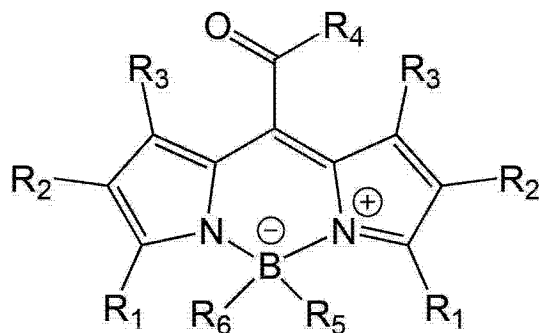
发明内容

[0009] 本发明的目的是克服现有荧光染料在性能和结构上的不足，提供一种分子结构简单、荧光量子效率高、发射波长较长、光稳定性好且制备方法简单的新型红光 BODIPY 荧光染料，该荧光染料适用于细胞成像、荧光探针或激光染料。

[0010] 本发明的技术方案：

[0011] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料，化学式为 $C_{10+m}H_{7+n}BF_2N_{2+x}O_y$ ，其中 m, n, x, y 均为 0-100 的整数，且分子具有以下结构：

[0012]



[0013] 其中： R_1 、 R_2 、 R_3 为烷基、芳基、烯基、炔基、酯基、醚基、硫醚基、氰基或卤素原子； R_4 为烷基、芳基、醚基、羟基或氨基； R_5 、 R_6 为烷基、烷氧基、醚基、硫醚基、炔基或氟原子； \ominus 为负电荷， \oplus 为正电荷。

[0014] 一种所述新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法，步骤如下：

[0015] 1) 将带有取代基 R_1 、 R_2 、 R_3 的吡咯溶解在有机溶剂中，在氮气氛围下加入乙醛酸乙酯，得到混合液，混合液中有机溶剂与带有取代基 R_1 、 R_2 、 R_3 的吡咯的体积比为 1-10000 : 1，乙醛酸乙酯与带有取代基 R_1 、 R_2 、 R_3 的吡咯的摩尔比为 0.01-0.50 : 1；

[0016] 2) 在氮气保护下，把催化剂滴加到反应液中，在温度为 0-100℃ 下反应 3 小时，得到反应液；

[0017] 3) 在上述反应液中加入 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ)，DDQ 与乙醛酸乙酯的摩尔比为 0.01-10 : 1，氧化脱氢 0.5 小时，得到脱氢液；

[0018] 4) 在上述脱氢液中依次加入有机胺和三氟化硼乙醚溶液，有机胺与乙醛酸乙酯的摩尔比为 1-300 : 1，三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙酯的摩尔比为 0.1-500 : 1，继续反应 1 小时，得到目标溶液；

[0019] 5) 减压蒸馏除去溶剂后，残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0020] 所述带有取代基为 R^1 、 R^2 、 R^3 的吡咯中的取代基 R^1 、 R^2 、 R^3 为烷基、芳基、烯基、炔基、酯基、醚基、硫醚基、氰基或卤素原子且直接连接到吡咯环上。

[0021] 所述有机溶剂为二氯甲烷、氯仿、苯、甲苯、二甲苯,乙醚、乙酸乙酯、二甲亚砜或二氧六环。

[0022] 所述催化剂为三氟乙酸或对甲苯磺酸。

[0023] 所述有机胺为三乙胺、三甲胺、二异丙基乙胺、二异丙基苯胺或哌啶。

[0024] 一种所述新型红光 BODIPY 荧光染料的应用,用于细胞成像、荧光探针或激光染料,方法是:可将该荧光染料分子溶解在生理盐水或羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)的缓冲水溶液中;或者将该荧光染料分子溶解在甲醇、乙醇、乙腈、二甲亚砜、二甲酰胺等有机溶剂中;或者水和上述有机溶剂任意比例的混合溶剂,然后把溶解有该荧光染料的上述溶液直接用于各种应用场合。

[0025] 本发明的优点是:该荧光染料的紫外可见吸收光谱和荧光发射光谱窄、荧光量子效率高、光稳定性好;可以用于细胞成像、荧光探针或激光染料,表现出良好的实际应用性;本发明的荧光染料分子结构简单、合成方法简便,使得其极易实际应用推广。

附图说明

[0026] 图 1 为实施例 1 制备的荧光染料一维氢核磁图谱,图中:横坐标为化学位移,纵坐标为信号强度。

[0027] 图 2 为实施例 1 制备的荧光染料紫外可见吸收光谱。

[0028] 图 3 为实施例 1 制备的荧光染料荧光发射光谱。

[0029] 图 4 为实施例 6 制备的荧光染料紫外可见吸收光谱。

[0030] 图 5 为实施例 6 制备的荧光染料荧光发射光谱。

[0031] 图 6 为实施例 1 制备的荧光染料在肿瘤细胞内的激光共聚焦成像图。

[0032] 图 7 为实施例 2 制备的荧光染料作为荧光探针对肿瘤细胞内质网成像图。

具体实施方式

[0033] 实施例 1:

[0034] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,步骤如下:

[0035] 1) 将 0.25 毫升 2-乙基吡咯溶解在 50 毫升甲苯中,在氮气氛围下加入 0.10 毫升乙醛酸乙酯,得到混合液,混合液中有机溶剂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的体积比为 200:1,乙醛酸乙酯与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的摩尔比为 1:2.4;

[0036] 2) 在氮气保护下,把 5 微升催化剂三氟乙酸滴加到反应液中,在温度为 0°C 下反应 3 小时,得到反应液;

[0037] 3) 在上述反应液中加入 245 毫克的 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ),DDQ 与乙醛酸乙酯的摩尔比为 1.1:1,氧化脱氢 0.5 小时,得到脱氢液;

[0038] 4) 在上述脱氢液中依次加入 0.12 毫升三乙胺和 0.16 毫升三氟化硼乙醚溶液,三乙胺与乙醛酸乙酯的摩尔比为 1.1:1,三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙酯的摩尔比为 1.1:1,继续反应 1 小时,得到目标溶液;

[0039] 5) 减压蒸馏除去溶剂后,残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0040] 该荧光染料的结构特征:

[0041] ^1H NMR(500.13MHz, CDCl_3): δ 1.34(m, 6H), 1.44(m, 3H), 3.04(q, $J=7.6\text{Hz}$, 4H), 4.4

7 (q, J=6.9Hz, 2H), 6.39 (d, J=3.2Hz, 2H), 7.26 (d, J=3.2Hz, 2H). ^{13}C NMR (125.77MHz, CDCl_3) : δ 14.2, 22.3, 29.7, 62.5, 118.4, 128.8, 130.7, 133.1, 163.8, 166.4. EI-MS $m/z=320.15\text{M}^+$.

[0042] 图 1 为实施例 1 制备的荧光染料一维氢核磁图谱, 图中: 横坐标为化学位移, 纵坐标为信号强度。图中表明: 各组氢的化学位移与该染料的结构完全对应, 可以确认是我们合成的目标化合物。

[0043] 图 2 为实施例 1 制备的荧光染料紫外可见吸收光谱。图 3 为实施例 1 制备的荧光染料荧光发射光谱。图中表明: 荧光染料的紫外最大吸收波长为 525nm (见图 2), 荧光最大发射波长为 586nm, Stokes 位移为 61nm, 荧光量子效率为 0.83, 说明该荧光染料具有很好的荧光性能。

[0044] 细胞培养及激光共聚焦成像实验:

[0045] 取 0.1mL 配置好的 $1.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 的实施例 1 化合物的二氯甲烷溶液于 10mL 的容量瓶中, 用氮气吹干溶剂后, 用 0.1mL 的二甲亚砷溶解后, 加入 PBS 溶液 (pH=7.4) 定容至 10mL 待用。子宫癌 HeLa 肿瘤细胞用常规的 DMEM 培养液 (10% 的胎牛血清, 0.2% 的 NaHCO_3 水溶液, 青霉素 100U/mL) 调整细胞浓度为 1.0×10^5 个 /L, 置于无菌盖玻片的培养皿中, 于 37°C , 5% CO_2 培养箱培养。再用 PBS 溶液清洗 3 次, 除去没有贴壁的细胞, 得到贴壁的子宫癌 HeLa 肿瘤细胞供实验用。实施例 1 化合物对子宫癌 HeLa 肿瘤细胞的激光共聚焦成像图见图 6。由图可见, 经化合物染色后, 在 37°C , 5% CO_2 培养箱培养 15 分钟的细胞呈现很强的荧光, 细胞清晰可见。说明此荧光染料对子宫癌 HeLa 肿瘤细胞有很好的成像作用。

[0046] 实施例 2:

[0047] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法, 步骤如下:

[0048] 1) 将 10 毫升 2-乙基吡咯溶解在 10 毫升二氯甲烷中, 在氮气氛围下加入 0.10 毫升乙醛酸乙脂, 得到混合液, 混合液中有有机溶剂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的体积比为 1:1, 乙醛酸乙脂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的摩尔比为 1:100;

[0049] 2) 在氮气保护下, 把 5 微升催化剂对甲苯磺酸滴加到反应液中, 在温度为 100°C 下反应 3 小时, 得到反应液;

[0050] 3) 在上述反应液中加入 2.24 克的 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌 (DDQ), DDQ 与乙醛酸乙脂的摩尔比为 10.0:1, 氧化脱氢 0.5 小时, 得到脱氢液;

[0051] 4) 在上述脱氢液中依次加入 3 毫升三甲胺和 4 毫升三氟化硼乙醚溶液, 三甲胺与乙醛酸乙脂的摩尔比为 30:1, 三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙脂的摩尔比为 24:1, 继续反应 1 小时, 得到目标溶液;

[0052] 5) 减压蒸馏除去溶剂后, 残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0053] 该荧光染料的结构特征: ^1H NMR (500.13MHz, CDCl_3): δ 1.34 (m, 6H), 1.44 (m, 3H), 3.04 (q, J=7.6Hz, 4H), 4.47 (q, J=6.9Hz, 2H), 6.39 (d, J=3.2Hz, 2H), 7.26 (d, J=3.2Hz, 2H). ^{13}C NMR (125.77MHz, CDCl_3): δ 14.2, 22.3, 29.7, 62.5, 118.4, 128.8, 130.7, 133.1, 163.8, 166.4. EI-MS $m/z=320.15\text{M}^+$.

[0054] 荧光探针在细胞内的成像实验:

[0055] 取 0.1mL 配置好的 $1.0 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 的实施例 1 荧光染料的二氯甲烷溶液于 10mL 的容量瓶中, 用氮气吹干溶剂后, 用 0.5mL 的二甲亚砷溶解后, 加入 PBS 溶液 (pH=7.4) 定容至 10mL 待用。子宫癌 HeLa 肿瘤细胞用常规的 DMEM 培养液 (10% 的胎牛血清, 0.2% 的 NaHCO_3

水溶液,青霉素 100U/mL)调整细胞浓度为 1.0×10^5 个/L,置于无菌盖玻片的培养皿中,于 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 培养箱培养。再用 PBS 溶液清洗 3 次,除去没有贴壁的细胞,得到贴壁的子宫癌 HeLa 肿瘤细胞供实验用。实施例 2 化合物对子宫癌 HeLa 肿瘤细胞的激光共聚焦成像图见图 7。由图可见,经染色后,在 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 培养箱培养 15 分钟的细胞内质网呈现很强的荧光,细胞内质网清晰可见。说明此荧光染料对细胞内质网有专一性作用,能够用于细胞内质网的成像。

[0056] 实施例 3:

[0057] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,步骤如下:

[0058] 1) 将 0.2 毫升 2-乙基吡咯溶解在 50 毫升乙醚中,在氮气氛围下加入 0.10 毫升乙醛酸乙脂,得到混合液,混合液中有有机溶剂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的体积比为 1:250,乙醛酸乙脂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的摩尔比为 1:500;

[0059] 2) 在氮气保护下,把 5 微升催化剂三氟乙酸滴加到反应液中,在温度为 20°C 下反应 3 小时,得到反应液;

[0060] 3) 在上述反应液中加入 2.3 毫克的 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ),DDQ 与乙醛酸乙脂的摩尔比为 0.01:1,氧化脱氢 0.5 小时,得到脱氢液;

[0061] 4) 在上述脱氢液中依次加入 30 毫升二异丙基乙胺和 80 毫升三氟化硼乙醚溶液,二异丙基乙胺与乙醛酸乙脂的摩尔比为 30:1,三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙脂的摩尔比为 50:1,继续反应 1 小时,得到目标溶液;

[0062] 5) 减压蒸馏除去溶剂后,残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0063] 该荧光染料的结构特征: ^1H NMR(500.13MHz, CDCl_3): δ 1.34(m, 6H), 1.44(m, 3H), 3.04(q, J=7.6Hz, 4H), 4.47(q, J=6.9Hz, 2H), 6.39(d, J=3.2Hz, 2H), 7.26(d, J=3.2Hz, 2H). ^{13}C NMR(125.77MHz, CDCl_3): δ 14.2, 22.3, 29.7, 62.5, 118.4, 128.8, 130.7, 133.1, 163.8, 166.4. EI-MS $m/z=320.15\text{M}^+$ 。

[0064] 实施例 4:

[0065] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法,步骤如下:

[0066] 1) 将 0.2 毫升 2-乙基吡咯溶解在 50 毫升氯仿中,在氮气氛围下加入 0.10 毫升乙醛酸乙脂,得到混合液,混合液中有有机溶剂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的体积比为 1:250,乙醛酸乙脂与带有取代基 R_1 , R_2 , R_3 的吡咯的摩尔比为 1:500;

[0067] 2) 在氮气保护下,把 5 微升催化剂对甲苯磺酸滴加到反应液中,在温度为 20°C 下反应 3 小时,得到反应液;

[0068] 3) 在上述反应液中加入 245 毫克的 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ),DDQ 与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1,氧化脱氢 0.5 小时,得到脱氢液;

[0069] 4) 在上述脱氢液中依次加入 0.1 毫升二异丙基苯胺和 0.02 毫升三氟化硼乙醚溶液,二异丙基苯胺与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1,三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙脂的摩尔比为 0.1:1,继续反应 1 小时,得到目标溶液;

[0070] 5) 减压蒸馏除去溶剂后,残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0071] 该荧光染料的结构特征: ^1H NMR(500.13MHz, CDCl_3): δ 1.34(m, 6H), 1.44(m, 3H), 3.04(q, J=7.6Hz, 4H), 4.47(q, J=6.9Hz, 2H), 6.39(d, J=3.2Hz, 2H), 7.26(d, J=3.2Hz, 2H). ^{13}C NMR(125.77MHz, CDCl_3): δ 14.2, 22.3, 29.7, 62.5, 118.4, 128.8, 130.7, 133.1, 163.8, 166.

4. EIMS $m/z=320.15M^+$ 。

[0072] 实施例 5：

[0073] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法，步骤如下：

[0074] 1) 将 0.25 毫升 2,4-二甲基吡咯溶解在 50 毫升二氯甲烷中，在氮气氛围下加入 0.10 毫升乙醛酸乙脂，得到混合液，混合液中有机溶剂与带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯的体积比为 200:1，乙醛酸乙脂与带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯的摩尔比为 1:2.4；

[0075] 2) 在氮气保护下，把 5 微升催化剂三氟乙酸滴加到反应液中，在温度为 20℃ 下反应 3 小时，得到反应液；

[0076] 3) 在上述反应液中加入 245 毫克的 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ)，DDQ 与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1，氧化脱氢 0.5 小时，得到脱氢液；

[0077] 4) 在上述脱氢液中依次加入 0.12 毫升哌啶和 0.16 毫升三氟化硼乙醚溶液，哌啶与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1，三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1，继续反应 1 小时，得到目标溶液；

[0078] 5) 减压蒸馏除去溶剂后，残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0079] 该荧光染料的结构特征： 1H NMR(500.13MHz, $CDCl_3$): δ 1.38(s, 6H), 1.44(m, 3H), 2.09(s, 6H), 4.47(q, J=6.9Hz, 2H), 6.02(s, 2H). ^{13}C NMR(125.77MHz, $CDCl_3$): δ 22.3, 25.9, 29.7, 62.5, 118.48, 128.8, 130.2, 133.7, 163.5, 166.1. EI-MS $m/z=320.15M^+$ 。

[0080] 实施例 6：

[0081] 一种新型红光 BODIPY 荧光染料的制备方法，步骤如下：

[0082] 1) 将 0.25 毫升 2,4-二甲基吡咯溶解在 50 毫升二甲苯中，在氮气氛围下加入 0.10 毫升乙醛酸乙脂，得到混合液，混合液中有机溶剂与带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯的体积比为 200:1，乙醛酸乙脂与带有取代基 R_1, R_2, R_3 的吡咯的摩尔比为 1:2.4；

[0083] 2) 在氮气保护下，把 5 微升催化剂三氟乙酸滴加到反应液中，在温度为 20℃ 下反应 3 小时，得到反应液；

[0084] 3) 在上述反应液中加入 245 毫克的 2,3-二氯-5,6-二氰基-1,4-苯醌(DDQ)，DDQ 与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1，氧化脱氢 0.5 小时，得到脱氢液；

[0085] 4) 在上述脱氢液中依次加入 0.12 毫升三乙胺和 0.16 毫升三氟化硼乙醚溶液，三乙胺与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1，三氟化硼乙醚溶液与乙醛酸乙脂的摩尔比为 1.1:1，继续反应 1 小时，得到目标溶液；

[0086] 5) 减压蒸馏除去溶剂后，残留物经过硅胶柱层析得到目标物。

[0087] 该荧光染料的结构特征： 1H NMR(500.13MHz, $CDCl_3$): δ 1.38(s, 6H), 1.44(m, 3H), 2.09(s, 6H), 4.47(q, J=6.9Hz, 2H), 6.02(s, 2H). ^{13}C NMR(125.77MHz, $CDCl_3$): δ 22.3, 25.9, 29.7, 62.5, 118.48, 128.8, 130.2, 133.7, 163.5, 166.1. EI-MS $m/z=320.15M^+$ 。

[0088] 图 5 是该荧光染料(浓度为 1.0×10^{-7} 摩尔/升)在二氯甲烷中的荧光发射光谱。荧光染料的最大吸收波长为 596nm(见图 4)，荧光最大发射波长为 676nm, Stokes 位移为 80nm, 荧光量子效率为 0.23, 说明该荧光染料具有很好的荧光性能。

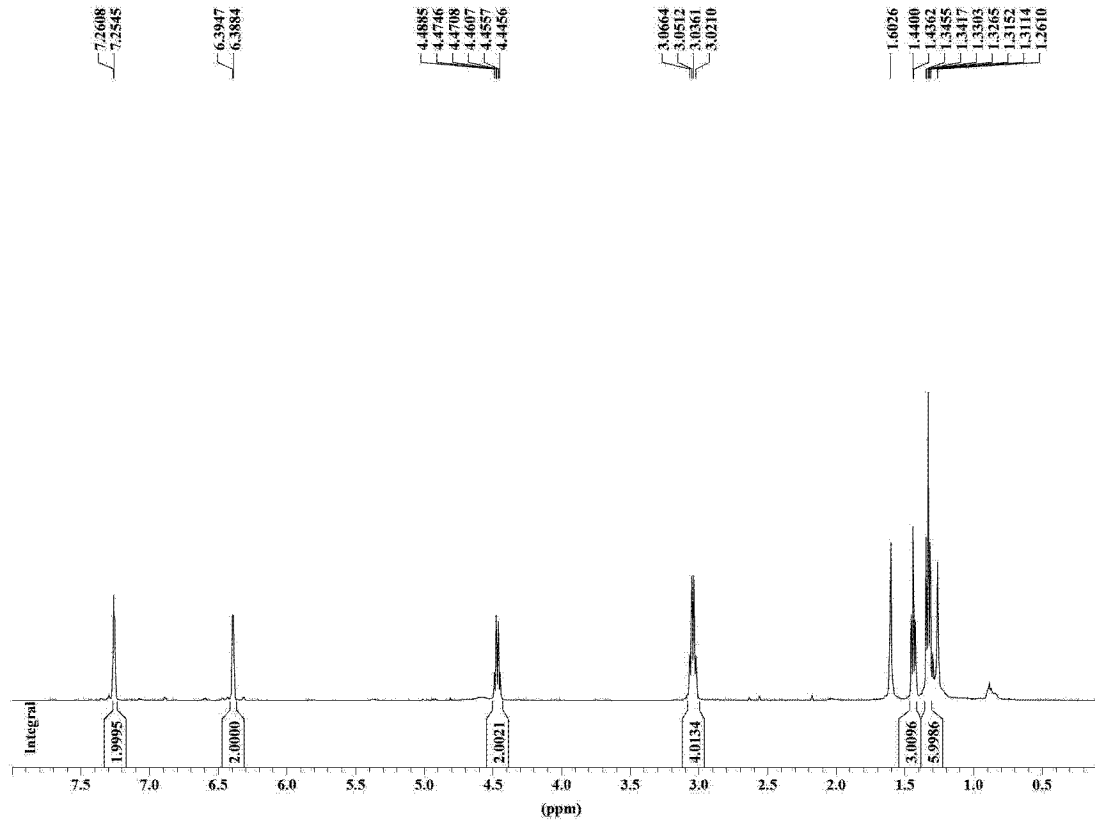


图 1

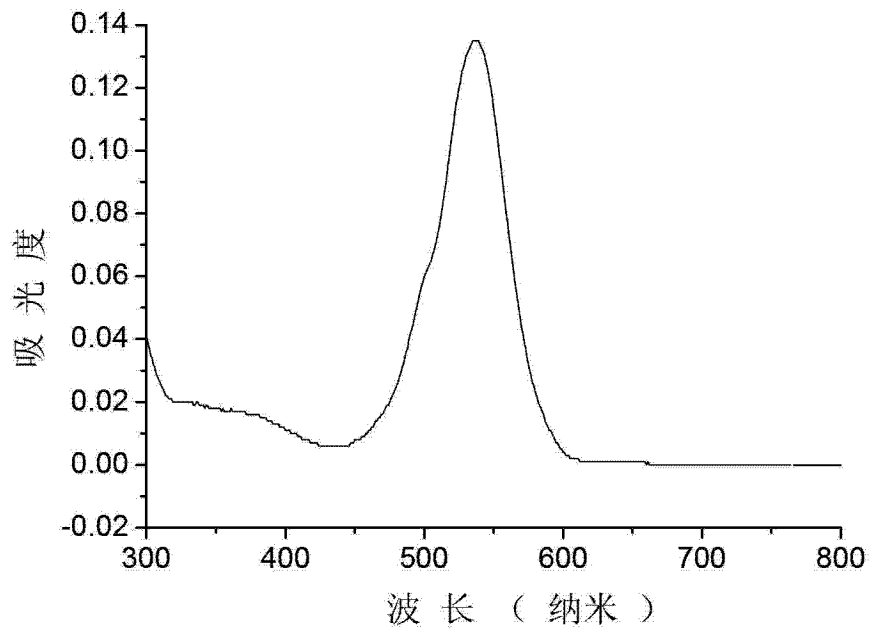


图 2

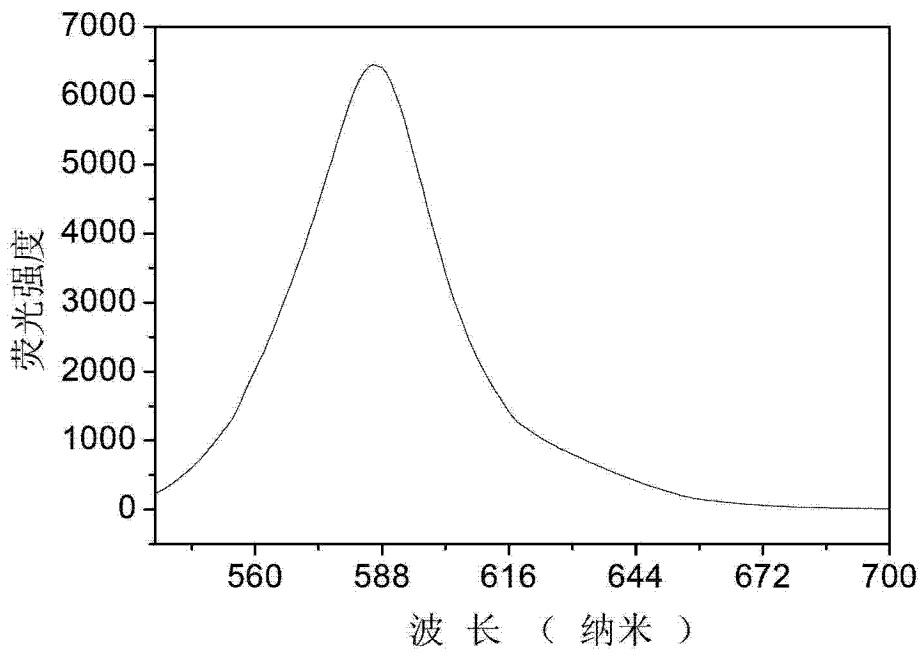


图 3

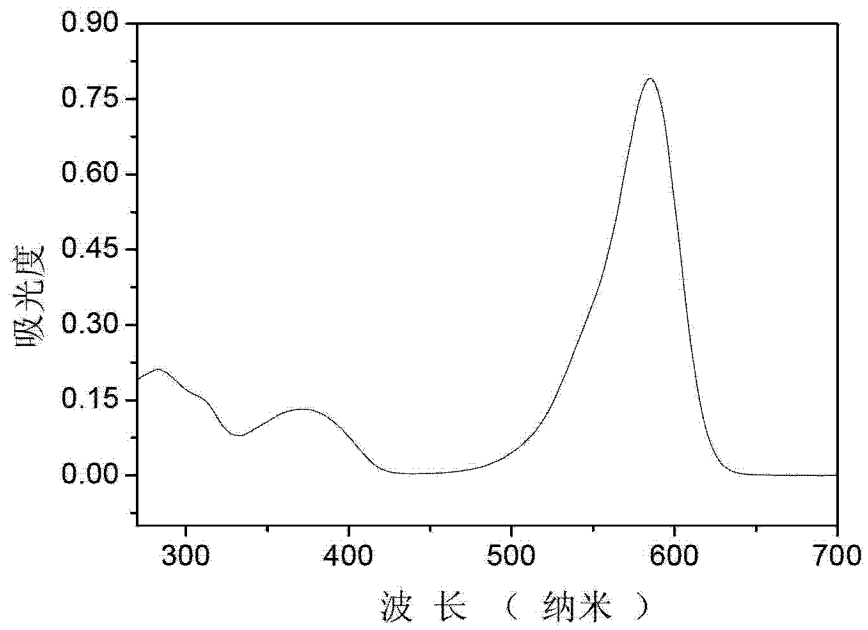


图 4

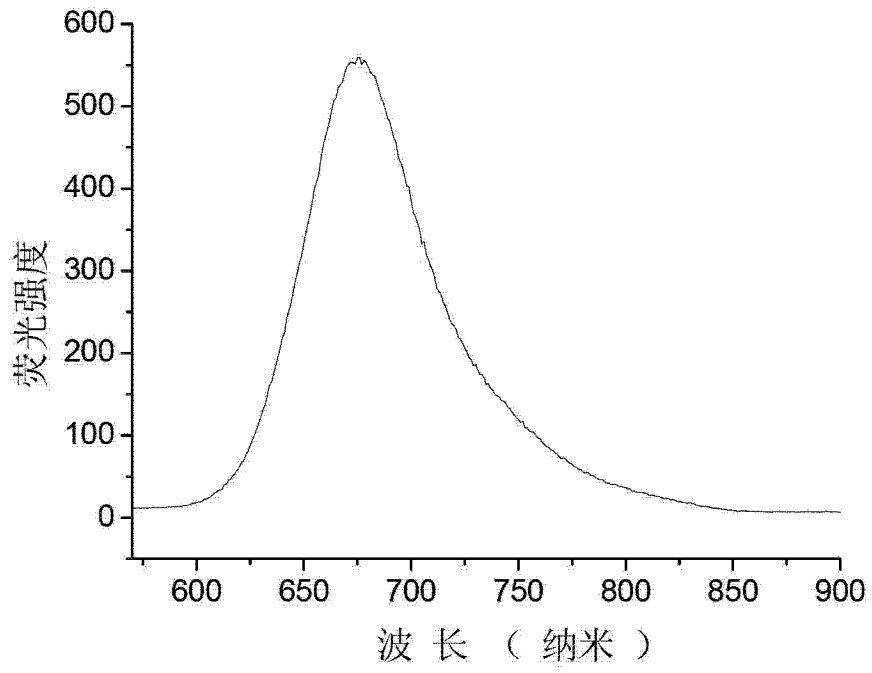


图 5

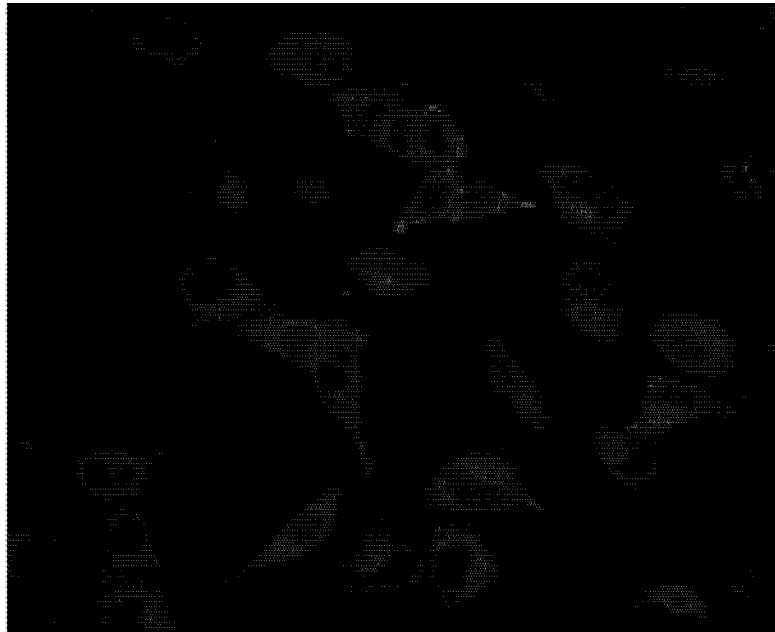


图 6

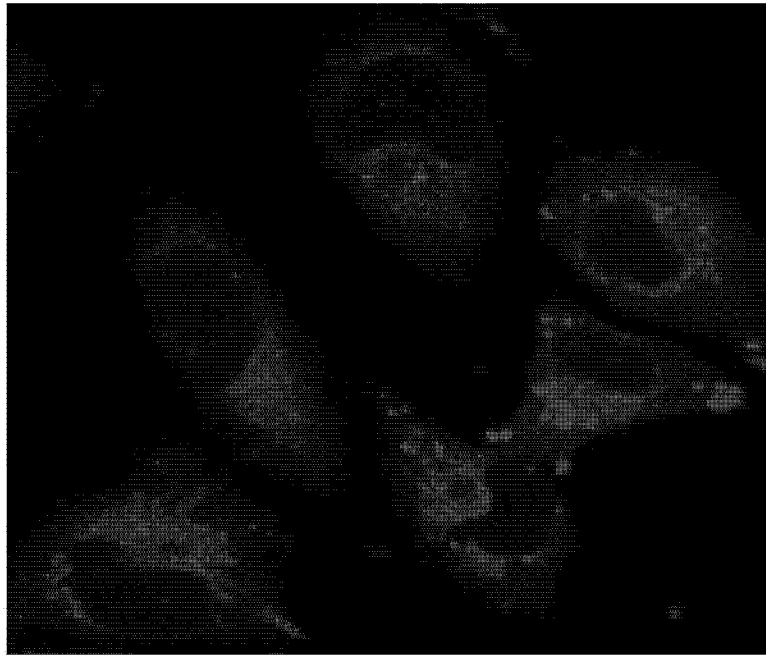


图 7