

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20520070153597

UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

邻硝基苄基光敏基团应用于选择性细胞标
记及药物控制释放

Applications of Photo-labile *O*-nitrobenzyl Compounds for
Selective Cell Labeling and Controlled Drugs Release

赖金平

指导教师姓名: 赵一兵 教 授

专业名称: 分 析 化 学

论文提交日期: 2010 年 8 月

论文答辩时间: 2010 年 8 月

学位授予日期: 2010 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010 年 8 月

**Applications of Photo-labile *O*-nitrobenzyl Compounds for
Selective Cell Labeling and Controlled Drugs Release**



**A Dissertation Submitted for the Graduate School in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of
Philosophy**

By Jinping Lai

Supervised by Professor & Ph. D: Yibing Zhao

Department of Chemistry, Xiamen University

August, 2010

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密后，解密后适用上述授权。
2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人签名：

日期： 年 月 日

目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	IV
第一章 光敏基团及其研究进展.....	1
1.1 光触发技术及光敏基团简介.....	1
1.2 光敏基团的结构及光裂解机理.....	3
1.2.1 邻硝基苄基及相关光敏基团.....	4
1.2.2 对羟基乙酰苯类光敏基团.....	7
1.2.3 4-甲基香豆素类光敏基团.....	8
1.2.4 二苯乙醇酮类光敏基团.....	10
1.2.5 其它光敏基团.....	10
1.3 光敏基团的应用研究进展.....	12
1.3.1 光敏基团标记生物活性分子.....	12
1.3.2 光触发药物控制释放研究.....	20
1.3.3 光敏基团应用于荧光染料的光标记.....	29
1.3.4 光敏基团在表面控制等其它方面的应用.....	34
1.4 本论文的研究思路、内容和意义.....	38
第二章 基于光标记荧光染料掺杂二氧化硅纳米颗粒的“后编码”荧光探针及其“在线编码”应用.....	41
2.1 引言.....	41

2.2 实验部分	42
2.2.1 主要试剂.....	43
2.2.2 仪器表征.....	43
2.2.3 实验方法.....	43
2.2.3.1 合成与表征.....	44
2.2.3.1.1 光标记荧光染料 CHCEA 的合成与表征.....	44
2.2.3.1.2 染料掺杂二氧化硅纳米颗粒的制备与表征.....	46
2.2.3.2 染料掺杂二氧化硅纳米颗粒的光触发“后编码”.....	46
2.2.3.3 染料掺杂二氧化硅纳米颗粒应用于细胞内光触发“在线编码”.....	47
2.2.3.4 拓展部分的合成.....	47
2.2.3.4.1 合成光标记染料荧光染料 CC.....	47
2.2.3.4.2 非共价染料掺杂多孔二氧化硅微球的制备.....	48
2.2.3.4.3 非共价染料掺杂多孔二氧化硅纳米颗粒的光触发“后编码”.....	48
2.3 结果与讨论	48
2.3.1 光标记荧光染料 CHCEA 的光谱特性.....	48
2.3.2 染料掺杂二氧化硅纳米颗粒的表征.....	51
2.3.3 染料掺杂二氧化硅纳米颗粒的“后编码”.....	52
2.3.4 染料掺杂二氧化硅纳米颗粒的“在线编码”初探.....	53
2.4 光触发荧光“后编码”体系的拓展	54
2.5 小结	58
第三章 新型光触发共价偶联反应的设计及其细胞膜选择性荧光标记应用研究	59

3.1 引言	59
3.2 实验部分	60
3.2.1 主要试剂.....	60
3.2.2 仪器表征.....	61
3.2.3 实验方法.....	62
3.2.3.1 合成与表征.....	62
3.2.3.1.1 合成邻亚硝基苯甲醛 NSBA.....	62
3.2.3.1.2 合成膜探针 ONBA.....	62
3.2.3.1.3 合成膜功能化荧光探针 DABF.....	64
3.2.3.2 邻硝基苄醇的光化学量子产率测定.....	64
3.2.3.3 邻亚硝基苯甲醛与苄胺、氨基酸、巯基乙酸反应动力学监测.....	65
3.2.3.4 邻硝基苄醇与苄胺光触发反应监测.....	65
3.2.3.5 细胞膜光触发选择性荧光标记.....	66
3.3 结果与讨论	66
3.3.1 邻硝基苄醇的光解.....	66
3.3.2 邻亚硝基苯甲醛的稳定性.....	67
3.3.3 邻亚硝基苯甲醛与亲核试剂的反应特性.....	68
3.3.4 邻硝基苄醇与苄胺的光触发共价偶联反应.....	73
3.3.5 细胞膜选择性荧光标记应用研究.....	74
3.3.6 生物毒性的评估.....	76
3.4 小结	77
第四章 基于新型光敏聚合物的光触发药物控制释放系统的构建	79

4.1 引言	79
4.2 实验部分	80
4.2.1 主要试剂	80
4.2.2 仪器表征	81
4.2.3 实验方法	82
4.2.3.1 合成与表征	82
4.2.3.1.1 合成光活性单体 NBAE	82
4.2.3.1.2 合成光活性单体 DMNBAE	83
4.2.3.1.3 合成光敏聚合物 pNIPAMNBAE	83
4.2.3.1.4 制备二氧化硅@光敏聚合物核-壳型复合纳米颗粒(SiO ₂ @PM NPs)	84
4.2.3.1.5 制备多孔二氧化硅@光敏聚合物复合纳米(MS@PM NPs)	84
4.2.3.2 细胞显微成像	86
4.2.3.3 细胞毒性实验	86
4.3 结果与讨论	86
4.3.1 新型光敏聚合物的设计	86
4.3.1.1 自由聚合物 pNIPAMNBAE	87
4.3.1.2 聚合物-二氧化硅复合纳米颗粒 SiO ₂ @PM NPs	89
4.3.2 新型光触发药物控制释放系统的构建	91
4.4 小结	96
第五章 一种可用于药物释放实时监测的光触发双释放系统	97
5.1 引言	97
5.2 实验部分	99

5.2.1 主要试剂.....	99
5.2.2 仪器表征.....	100
5.2.3 实验方法.....	100
5.2.3.1 合成与表征.....	100
5.2.3.1.1 合成光标记中心核 Caged BHC.....	100
5.2.3.1.2 合成香豆素-NHS 碳酸酯 Cou-NHS.....	101
5.2.3.1.3 合成苯酚-NHS 碳酸酯.....	102
5.2.3.1.4 合成 AB ₂ 型光触发荧光染料双释放系统 pro-coumarin.....	102
5.2.3.1.5 合成 ABC 型光触发药物-荧光染料双释放系统 LDFR.....	103
5.2.3.2 pro-coumarin 的光触发释放 HPLC 及荧光监测.....	103
5.2.3.3 LDFR 的光触发释放 HPLC 及荧光监测.....	104
5.3 结果与讨论.....	104
5.3.1 AB ₂ 型光触发荧光染料双释放系统 pro-coumarin.....	104
5.3.2 ABC 型光触发药物-荧光染料双释放系统 LDFR.....	106
4.4 小结.....	107
论文的创新性.....	109
参考文献.....	111
攻读博士学位期间所获奖项.....	143
攻读博士学位期间发表与交流的论文.....	144
致 谢.....	146

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	IV
Chapter 1 Research advances in photo-labile groups	1
1.1 Introduction on photo-triggered technology and photo-labile groups	1
1.2 Structure and photoreaction mechanism of photo-labile groups	3
1.2.1 <i>O</i> -Nitrobenzyl derivatives.....	4
1.2.2 <i>p</i> -hydroxyphenacyl derivatives.....	7
1.2.3 4-methyl coumarin derivatives.....	8
1.2.4 The benzoin groups.....	10
1.2.5 Other photo-labile groups.....	10
1.3 Application research advances in photo-labile groups	12
1.3.1 Caged biomolecules.....	12
1.3.2 Photo-triggered drugs controlled release.....	20
1.3.3 Caged fluorescent dyes.....	29
1.3.4 Application of photo-labile groups in surface modulations and other research areas.....	34
1.4 Objectives, contents and significance of the dissertation	38
Chapter 2 Caged fluorescent dye doped silica nanoparticles for “post-encoding” and “<i>in situ</i> encoding”	41

2.1 Introduction	41
2.2 Experimental section	42
2.2.1 Reagents.....	43
2.2.2 Instruments and characterizations.....	43
2.2.3 Methods.....	43
2.2.3.1 Syntheses and characterizations.....	44
2.2.3.1.1 Caged fluorescent dye CHCEA.....	44
2.2.3.1.2 Caged fluorescent dye doped silica nanoparticles.....	46
2.2.3.2 Caged fluorescent dye doped silica nanoparticles based photo-triggered “post-encoding”	46
2.2.3.2 Caged fluorescent dye doped silica nanoparticles for photo-triggered intracellulare “post-encoding”	47
2.2.3.4 Additional synthesis.....	47
2.2.3.4.1 Syntheses of caged fluorescent dye CC.....	47
2.2.3.4.2 Preparation of hydrophobic caged fluorescent dye doped mesoporous silica nanoparticles.....	48
2.2.3.4.3 Hydrophobic caged fluorescent dye doped mesoporous silica nanoparticles based photo-triggered “post-encoding”	48
2.3 Results and discussion	48
2.3.1 Spectral characteristics of the CHCEA.....	48
2.3.2 Characterizations of caged dye doped fluorescent silica nanoparticles.....	51
2.3.3 Caged dye doped fluorescent silica nanoparticles for photo-triggered “post-encoding”	52
2.3.4 Application of caged dye doped fluorescent silica nanoparticles for “ <i>in situ</i> ”	

encoding”	53
2.4 Development of other systems for photo-triggered “post-encoding” ...	54
2.5 Conclusions	58
Chapter 3 Development of a novel photo-triggered covalent coupling reaction and its application in selective labeling of cell membrane	59
3.1 Introduction	59
3.2 Experimental section	60
3.2.1 Reagents.....	60
3.2.2 Instruments and characterizations.....	61
3.2.3 Methods.....	62
3.2.3.1 Syntheses and characterizations.....	62
3.2.3.1.1 Syntheses of NSBA.....	62
3.2.3.1.2 Syntheses of membrane probe ONBA.....	62
3.2.3.1.3 Syntheses of fluorescent sensor DABF.....	64
3.2.3.2 Determination of the photochemical quantum yield of <i>o</i> -nitrobenzyl alcohol.....	64
3.2.3.3 Dynamic monitoring the reactions of NSBA towards Bza, amino acids and TGA, respectively.....	65
3.2.3.4 Monitoring the photo-triggered coupling reaction of <i>o</i> -nitrobenzyl alcohol with Bza.....	65
3.2.3.5 Photo-triggered selective labeling of cell membrane.....	66
3.3 Results and discussion	66

3.3.1	Photolysis of <i>o</i> -nitrobenzyl alcohol.....	66
3.3.2	Stability of <i>o</i> -nitrosobenzaldehyde.....	67
3.3.3	Reaction of <i>o</i> -nitrosobenzaldehyde towards nucleophilic reagents.....	68
3.3.4	Photo-triggered covalent coupling reaction of <i>o</i> -nitrobenzyl alcohol with Bza.....	73
3.3.5	Appllicaton of the propsed photo-triggered covalent coupling reaction for selective labeling of cell membrane.....	74
3.3.6	Evaluating the cellular cytotoxicity.....	76
3.4	Conclusions.....	77
Chapter 4 Novel light-responsive polymer based photo-tirggered drugs controlled release system.....		
4.1	Introduction.....	79
4.2	Experimental section.....	80
4.2.1	Reagents.....	80
4.2.2	Instruments and characterizations.....	81
4.2.3	Methods.....	82
4.2.3.1	Syntheses and characterizations.....	82
4.2.3.1.1	Synthesis of light-responsive monomer NBAE.....	82
4.2.3.1.2	Synthesis of light-responsive monomer DMNBAE.....	83
4.2.3.1.3	Synthesis of light-responsive polymer pNIPAMNBAE.....	83
4.2.3.1.4	Preparation of silica@light-responsive polymer core-shell hybrid nanoparticles(SiO ₂ @PM NPs)	84
4.2.3.1.5	Preparation of mesoporous silica@light-responsive polymer	

hybrid nanoparticles (MS@PM NPs)	84
4.2.3.2 Fluorescence confocal imaging of cell.....	86
4.2.3.3 Evaluating the cellular cytotoxicity.....	86
4.3 Results and discussion.....	86
4.3.1 Design a novel type light-responsive polymer.....	86
4.3.1.1 Random light-responsive polymer pNIPAMNBAE.....	87
4.3.1.2 Polymer-silica hybrid nanoparticles SiO ₂ @PM NPs.....	89
4.3.2 Fabricating a novel light-responsive drugs controlled release system...91	
4.4 Conclusions.....	96
Chapter 5 Light-triggered dual release system for real-time monitoring of the drug release.....	97
5.1 Introduction.....	97
5.2 Experimental section.....	99
5.2.1 Reagents.....	99
5.2.2 Instruments and characterizations.....	100
5.2.3 Methods.....	100
5.2.3.1 Syntheses and characterizations.....	100
5.2.3.1.1 Synthesis of functionalized core Caged BHC.....	100
5.2.3.1.2 Synthesis of coumarin-NHS carbonate.....	101
5.2.3.1.3 Synthesis of phenol-NHS carbonate.....	102
5.2.3.1.4 Synthesis of AB ₂ type light-triggered fluorophore dual release system pro-coumarin.....	102

5.2.3.1.5 Synthesis of AB ₂ type light-triggered drug-fluorophore dual release system LDFR.....	103
5.2.3.2 HPLC and fluorescence monitoring the light-triggered release property of pro-coumarin.....	103
5.2.3.3 HPLC and fluorescence monitoring the light-triggered release property of LDFR.....	104
5.3 Results and discussion.....	104
5.3.1 The AB ₂ type fluorophore dual release system pro-coumarin.....	104
5.3.1 The ABC type drug-fluorophore dual release system LDFR.....	106
5.4 Conclusions.....	107
Innovations of the dissertation researches.....	109
Reference.....	111
Awards and Honnors.....	143
Publications.....	144
Acknowledgements.....	145

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库