



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103097339 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 27

(21) 申请号 201180041465. 6

(22) 申请日 2011. 08. 26

(30) 优先权数据

61/377, 570 2010. 08. 27 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 02. 26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/SG2011/000294 2011. 08. 26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/026886 EN 2012. 03. 01

(73) 专利权人 新加坡国立大学

地址 新加坡新加坡城

专利权人 新加坡科技研究局

(72) 发明人 张龙泰 李松灿 姜男永

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 彭鲲鹏 卢蓓

(51) Int. Cl.

C07C 233/64(2006. 01)

(56) 对比文件

US 2538009 A, 1951. 01. 16, 全文.

Cheng-Gang Niu 等. Fluorescence water sensor based on covalent immobilization of chalcone derivative. 《ANALYTICA CHIMICA ACTA》. 2006, 第 577 卷 (第 2 期), 第 264-270 页.

审查员 王大为

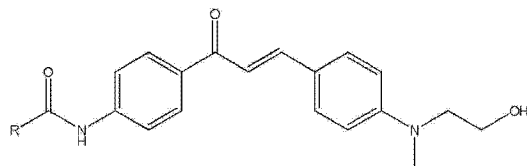
权利要求书4页 说明书10页 附图19页

(54) 发明名称

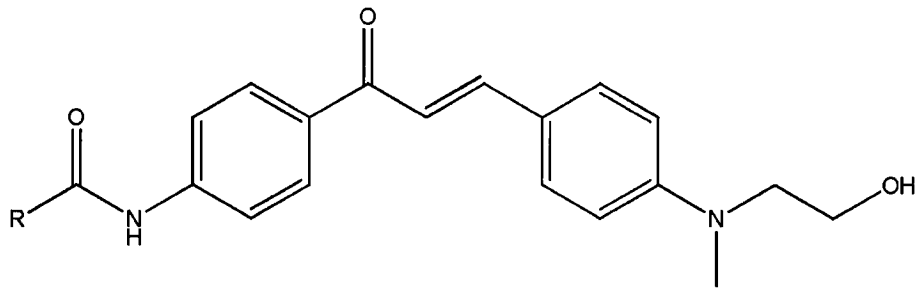
用于胚胎干细胞探测的查耳酮结构荧光染料

(57) 摘要

本发明包括由以下结构式表示的化合物: 其中R描述于本文中。本发明的化合物可用于对胚胎干细胞进行染色。



1. 由以下结构式表示的化合物或其盐，



其中：

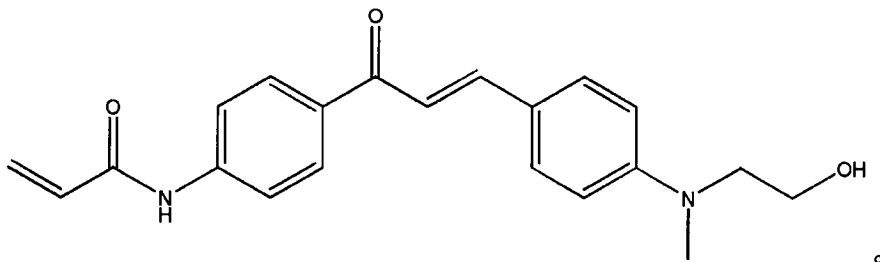
R 是 C_{1-16} 烷基、 C_{2-16} 烯基、 C_{2-16} 炔基、碳环基或杂环基，它们各自被独立地选自以下的一个或多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 $-NHCOC_{1-6}$ 烷基、 $-OCOC_{1-6}$ 烷基、 $-COOC_{1-6}$ 烷基、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、 $-SC_{1-6}$ 烷基、 C_{3-9} 环烷基、芳基和苯氧基，其中苯氧基或芳基各自进一步被选自以下的一个或多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷基和 C_{1-10} 烷氧基；

其中所述碳环基选自 3-12 元饱和的或不饱和的脂肪族环烃环或者 6-12 元芳环；所述杂环基选自环 4-12 元饱和或不饱和脂肪族环或芳环，其包含独立地选自 N、O 或 S 的 1、2、3、4 或 5 个杂原子；所述芳基选自 6-12 元单环或双环体系。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，或其盐，其中 R 是 C_{1-16} 烷基。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物，或其盐，其中 R 是 C_{1-11} 烷基，其被独立地选自以下的一个、两个或三个基团任选取代：氯、溴、甲基、乙基、甲氧基、 $-COOCH_3$ 、 $-OCOCH_3$ 、环戊基、苯基和苯氧基，其中所述苯基或苯氧基被独立地选自氟、氯和甲氧基的一个、两个、三个、四个或五个基团任选且独立地取代。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物，或其盐，其中所述化合物由以下结构式表示：



5. 根据权利要求 1 所述的化合物，或其盐，其中 R 是 C_{2-16} 烯基。

6. 根据权利要求 5 所述的化合物，或其盐，其中 R 是 $-CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH_2C=CH_2$ 、 $(CH_2)_8C=CH_2$ ，其被选自甲基和苯基的一个或多个取代基任选取代，其中所述苯基被氯任选取代。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物，或其盐，其中 R 是碳环基，其中所述碳环基选自 3-12 元饱和的或不饱和的脂肪族环烃环或者 6-12 元芳环。

8. 根据权利要求 1 所述的化合物，或其盐，其中 R 是 6-12 元芳环，其被独立地选自以下的一个或多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 $-NHCOC_{1-6}$ 烷基、 $-OCOC_{1-6}$ 烷基、 $-COOC_{1-6}$ 烷基、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、 $-SC_{1-6}$ 烷基、 C_{3-9} 环烷基、芳基和苯氧基，其中苯氧基或芳基各自进一步被选自以下的一个或多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷

基和 C₁₋₁₀烷氧基；

其中所述芳基选自 6-12 元单环或双环体系。

9. 根据权利要求 8 所述的化合物,或其盐,其中 R 是苯基,其被独立地选自以下的一个或更多个基团任选取代:卤素、NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、-COOC₁₋₆烷基、C₁₋₁₀烷基、卤代 C₁₋₁₀烷基、C₁₋₁₀烷氧基、-SC₁₋₆烷基、C₃₋₉环烷基、芳基和苯氧基,其中苯氧基或芳基各自进一步被选自以下的一个或更多个基团任选取代:卤素、NO₂、C₁₋₁₀烷基、卤代 C₁₋₁₀烷基和 C₁₋₁₀烷氧基;

其中所述芳基选自 6-12 元单环或双环体系。

10. 根据权利要求 9 所述的化合物,或其盐,其中 R 是苯基,其被独立地选自以下的一个、两个、三个、四个或五个基团任选取代:卤素、NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、C₁₋₁₀烷基、卤代 C₁₋₄烷基、C₁₋₁₀烷氧基和苯基。

11. 根据权利要求 10 所述的化合物,或其盐,其中 R 是苯基,其被独立地选自以下的一个、两个、三个、四个或五个基团任选取代:氟、氯、溴、碘、-NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、戊基、己基、庚基、壬基、癸基、-CF₃、-CH₂Cl、甲氧基、乙氧基、丁氧基、己氧基、庚氧基和苯基。

12. 根据权利要求 8 所述的化合物,或其盐,其中 R 是萘基,其被独立地选自以下的一个、两个、三个、四个或五个基团任选取代:卤素、NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、C₁₋₁₀烷基、卤代 C₁₋₄烷基、C₁₋₁₀烷氧基和苯基。

13. 根据权利要求 12 所述的化合物,或其盐,其中 R 是萘基,被乙氧基任选取代。

14. 根据权利要求 7 所述的化合物,或其盐,其中 R 是 C₃₋₉环烷基,其被独立地选自以下的一个或两个基团任选取代:卤素、NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、C₁₋₁₀烷基、卤代 C₁₋₄烷基、C₁₋₁₀烷氧基和苯基。

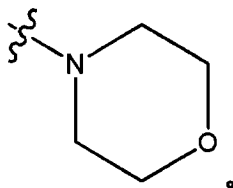
15. 根据权利要求 14 所述的化合物,或其盐,其中 R 是环己基、环戊基、环丁基或环丙基。

16. 根据权利要求 7 所述的化合物,或其盐,其中 R 是 C₃₋₉环烯基,其被独立地选自以下的一个或两个基团任选取代:卤素、NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、C₁₋₁₀烷基、卤代 C₁₋₄烷基、C₁₋₁₀烷氧基和苯基。

17. 根据权利要求 16 所述的化合物,或其盐,其中 R 是环己烯基。

18. 根据权利要求 1 所述的化合物,或其盐,其中 R 是杂环基,其中所述杂环基选自环 4-12 元饱和或不饱和脂肪族环或芳环,其包含独立地选自 N、O 或 S 的 1、2、3、4 或 5 个杂原子。

19. 根据权利要求 18 所述的化合物,或其盐,其中 R 是



20. 根据权利要求 1 所述的化合物,或其盐,其中 R 是杂芳基,其被独立地选自以下的一个或更多个基团任选取代:卤素、NO₂、-NHCOC₁₋₆烷基、-OCOC₁₋₆烷基、-COOC₁₋₆烷基、C₁₋₁₀烷

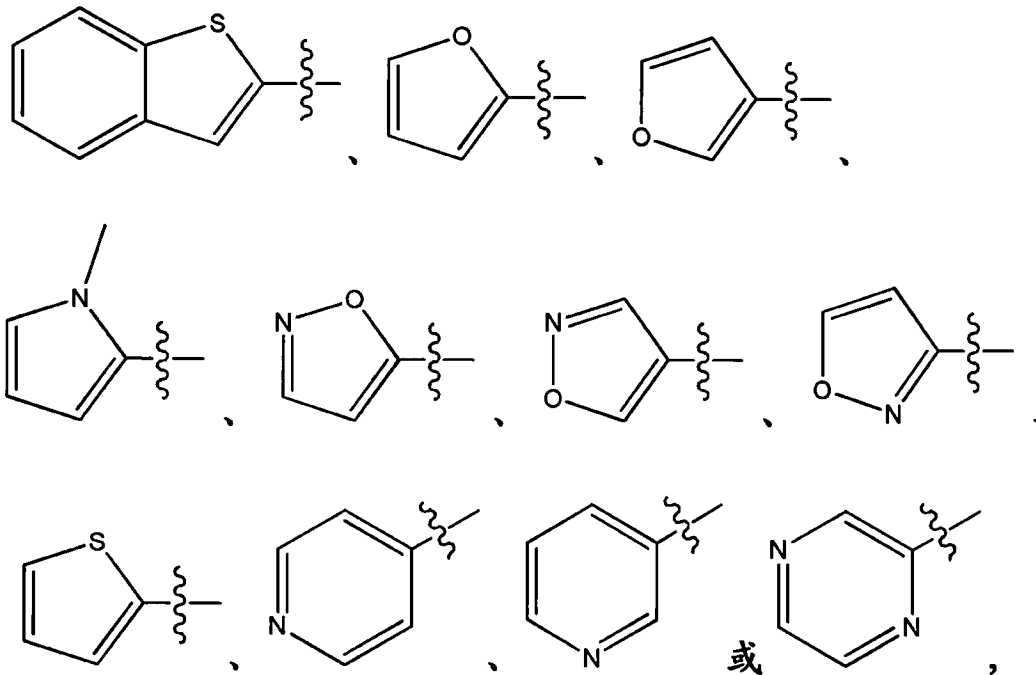
基、卤代 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、 $-SC_{1-6}$ 烷基、 C_{3-9} 环烷基、芳基和苯氧基，其中苯氧基或芳基各自进一步被选自以下的一个或更多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷基和 C_{1-10} 烷氧基；

其中所述芳基选自 6-12 元单环或双环体系；

所述杂芳基是 5-12 元单价杂芳单环或双环体系，其包含独立地选自 N、O 和 S 的 1、2、3 或 4 个杂原子。

21. 根据权利要求 20 所述的化合物，或其盐，其中 R 是杂芳基，其选自：苯并 [b] 噻吩、呋喃基、吡咯、异噻唑、噻吩、吡啶和嘧啶。

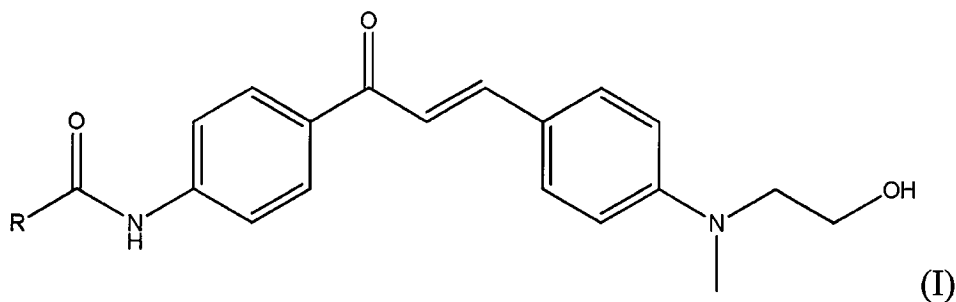
22. 根据权利要求 21 所述的化合物，或其盐，其中 R 选自：



其中，每个 R 被独立地选自以下的一个、两个或三个基团任选取代：氟、氯、溴、 $-NO_2$ 、甲基、甲氧基、 $-SCH_3$ 和苯基，其中所述苯基被独立地选自以下的一个、两个或三个基团任选取代：氟、氯和 NO_2 。

23. 分离胚胎干细胞的方法，其包括用权利要求 1 所述的化合物对所述细胞进行染色的步骤。

24. 用于对胚胎干细胞进行染色的方法，其包括用式 (I) 的化合物或其盐使胚胎干细胞染色，

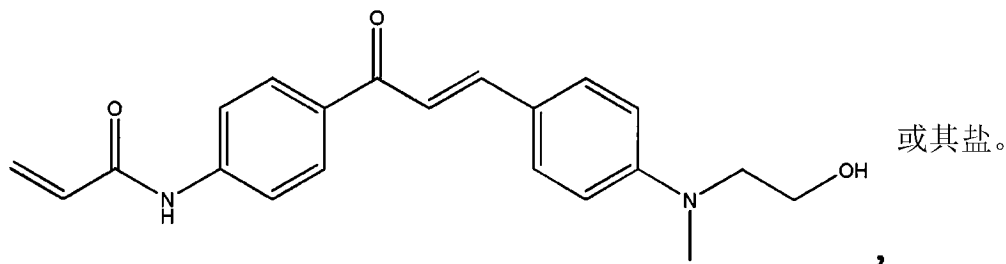


式 (I) 中：

R 是 C_{1-16} 烷基、 C_{2-16} 烯基、 C_{2-16} 炔基、碳环基或杂环基，它们各自被独立地选自以下的一个或多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 $-NHCOC_{1-6}$ 烷基、 $-OCOC_{1-6}$ 烷基、 $-COOC_{1-6}$ 烷基、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷基、 C_{1-10} 烷氧基、 $-SC_{1-6}$ 烷基、 C_{3-9} 环烷基、芳基和苯氧基，其中苯氧基或芳基各自进一步被选自以下的一个或多个基团任选取代：卤素、 NO_2 、 C_{1-10} 烷基、卤代 C_{1-10} 烷基和 C_{1-10} 烷氧基；

其中所述碳环基选自 3-12 元饱和的或不饱和的脂肪族环烃环或者 6-12 元芳环；所述杂环基选自环 4-12 元饱和或不饱和脂肪族环或芳环，其包含独立地选自 N、O 或 S 的 1、2、3、4 或 5 个杂原子；所述芳基选自 6-12 元单环或双环体系。

25. 根据权利要求 24 的方法，其中所述式 (I) 的化合物是：



用于胚胎干细胞探测的查耳酮结构荧光染料

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于 2010 年 8 月 27 日提交的美国临时申请 No. 61/377, 570 的权益。上述申请的全部教导通过引用并入本文。

[0003] 发明背景

[0004] 就多种生物现象的分析而言, 荧光检测是一项必不可少的技术。在过去的几十年中, 开发了许多小分子荧光化学传感器以用于生物分析中, 它们通常经过精心设计以选择性地检测靶物质或现象。(参见 (a) Geddes, C. D.; Lakowicz, J. R., Topics in Fluorescence Spectroscopy, 第 9 卷; Springer: New York, 2005. (b) Geddes, C. D.; Lakowicz, J. R. Topics in Fluorescence Spectroscopy, 第 10 卷; Springer: New York, 2005, 二者的教导通过引用并入本文)。

[0005] 胚胎干细胞 (ESC) 来自囊胚阶段胚胎的内细胞团 (ICM), 并且能够无限地自我更新。ESC 是多能的, 因为它们能够产生代表全部三种胚层的分化子代, 以及支持发育的胚外组织。在哺乳动物中, 多能特性限于卵母细胞、合子、早期胚胎细胞、原生殖细胞和来自多能细胞的肿瘤干细胞 (胚胎癌)。

[0006] ESC 可具有以下特征: POU 转录因子的成员 Oct-3/4 (也称为 Oct-3 或 Oct-4) 和 Nanog 的高水平表达。需要关键量的 Oct-3/4 和 Nanog 表达以维持干细胞多能性。当诱导 ES 细胞分化时, Oct-3/4 和 Nanog 下调, 已证实这对于正常和多样的发育程序而言是必要的。可以通过免疫细胞化学方法来监测 ESC 分化的各个阶段。用于探测小鼠胚胎干细胞的方法一般通过细胞表面抗体 (如 Nanog、Oct4 或 GFP 荧光蛋白) 来诊断。但是, 这些方案受到限制, 主要是对于干细胞分化和选择的晚期来说。

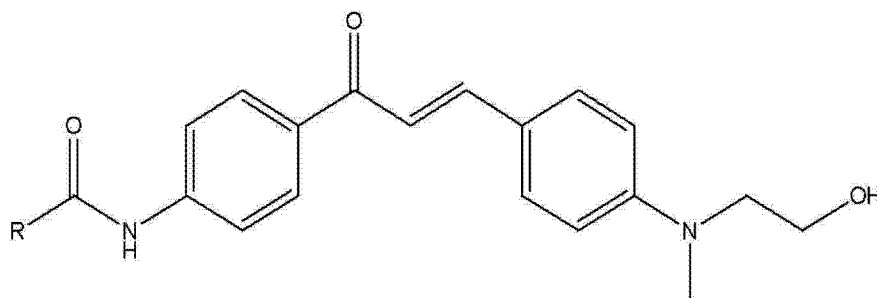
[0007] 因此, 需要可以监测分化过程的手段, 其可以减少或排除一个或更多个上述问题。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明基于显示取决于溶剂极性和 pH 之荧光发射敏感性的查耳酮结构新荧光染料的合成。查耳酮衍生物具有中央酮基团, 其具有可使这些化合物适于用作荧光发射染料的接受电子特性。

[0010] 本发明的一个实施方案是由以下结构式表示的化合物或其盐,

[0011]



[0012] 其中:

[0013] R 是 (C₁-C₁₆) 烷基、(C₂-C₁₆) 烯基、(C₂-C₁₆) 炔基、碳环基或杂环基, 它们各自任选地被独立地选自以下的一个或更多个基团取代: 卤素、NO₂、-NHCO(C₁-C₆) 烷基、-OCO(C₁-C₆) 烷

基、-COO(C₁-C₆) 烷基、(C₁-C₁₀) 烷基、卤代 (C₁-C₁₀) 烷基、(C₁-C₁₀) 烷氧基、-S(C₁-C₆) 烷基、(C₃-C₉) 环烷基、芳基和苯氧基,其中苯氧基或芳基各自进一步被选自以下的一个或多个基团任选取代:卤素、NO₂、(C₁-C₁₀) 烷基、卤代 (C₁-C₁₀) 烷基和 (C₁-C₁₀) 烷氧基。

[0014] 本文所述的查耳酮衍生物具有可用于对特定胚胎干细胞进行染色的荧光发射谱。查耳酮支架 (scaffold) 与许多化学官能基团相容,并且可以与蛋白质以及其它目的大分子生物缀合。如本文所述,本发明的查耳酮衍生物对小鼠胚胎干细胞群 (embryonic stem population) 和 MEF 饲养细胞 (MEF feeder cell) 进行选择性的染色。所述查耳酮衍生物可用作 ES 的新探针,并且对理解早期 iPS 产生机制有用。此外,所述查耳酮衍生物可用于阐明 ESC 中的新生物标志物。

[0015] CDg4(图 1 中表示为 CLA-7 的化合物)对胚胎干细胞分化的早期阶段进行染色,这允许在甚至第 5 天从饲养细胞的混合物中进行选择性分选和分离。因此,使用本发明的查耳酮衍生物可以在诱导剂处理后从饲养细胞分选胚胎干细胞。

[0016] 附图简述

[0017] 图 1 是显示本发明的查耳酮化合物的表。该表包括:化合物的质量(计算值)、质量(实测值)、吸收(Abs)、发射(Em)、消光系数(Ext Coeff)和量子产额(quantum yield)(5 μM)数据。

[0018] 图 2 是用 FACS 表明用 CDg4 对 4dpi(day of post induction,诱导后天数) iPS 进行选择性的染色的图。将 iPS 细胞保持在 mESC 培养基中,每天更换该培养基直至指定时间点。在 37°C 下,用 2 μM 的 CDg4 孵育 4dpi iPS 1 小时。通过胰蛋白酶处理来收获细胞,用 PBS 洗涤,重悬于 PBS 中。使用 FACS 仪 (BD FACSAria™) 收集进入 SSC_{low} CDg4_{bright} (R2) 和 SSC_{high} CDg4_{dim} (R1) 区的细胞。

[0019] 图 3 是描述本发明的查耳酮衍生物的荧光测量的示意图。

[0020] 图 4 显示 CDg4 染色的 mESC 和 MEF 的流式细胞术点图图像。

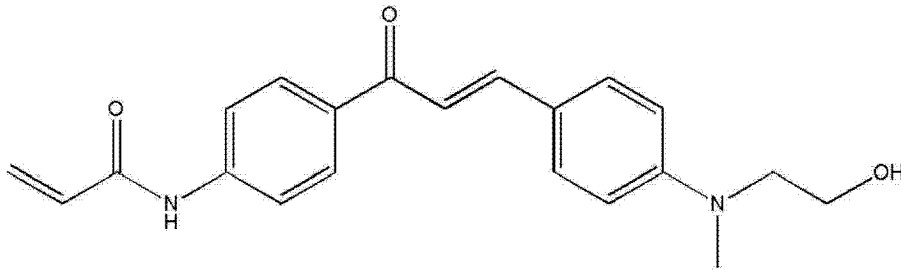
[0021] 发明详述

[0022] 以下为本发明的一些示例性实施方案的描述。在本文中所引用的全部专利、公开申请和参考文献的教导通过整体引用并入本文。

[0023] 查耳酮是 1,3-二苯基-2-丙烯-1-酮化合物,其中两个芳环通过三碳 α, β-不饱和羰基体系连接。查耳酮富含于可食用植物中,并且被认为是类黄酮和异类黄酮(isoflavonoid)的前体。已报道整合查耳酮骨架的化合物具有多种生物活性,如抗微生物、抗炎、止痛、抗血小板、抗溃疡、抗疟疾、抗癌、抗病毒、抗利什曼虫、抗氧化、抗结核、抗高血糖、免疫调节活性。(参见(a)Mokle S S 等, Int. J. Chem. Sci. 2004, 2(1), 96. (b). Hsieh H K 等, J. Pharm. Pharmacol., 2000, 52, 163. (c)Viana G S 等, J. Phytomedicine, 2003, 10, 189. (d)Zhao L M 等., Bioorg. Med. Chem. Lett, 2005, 15, 5027. (e)Mukarami S 等, Biochem. Pharmacol, 1991, 42, 1447. (f)Liu M 等, J. Med. Chem, 2001, 44, 4443. (g) Francesco E 等, Phytochem, 2007, 68, 939. (h)Onyilagna J C 等, Can. J. Plant Pathol, 1997, 19, 133. (i)Nielsen S F 等, Bioorg. Med. Chem. Lett, 1995, 5, 449. (j)Miranda C L 等, J. Agric. Food Chem, 2000, 48, 3876. (k)Siva Kumar P M 等, Chem. Pharm. Bull., 2007, 55(1), 44. (l)Satyanarayana M 等, Bioorg. Med. Chem., 2004, 12, 883. (m)Barford L 等, Int. Immunopharmacol, 2002, 2, 545, 其全部教导通过引用并入本文)。

[0024] 长时间以来,因为查耳酮衍生物的供体-受体能力以及易于官能化,它们的光物理特性和光化学特性受到了大量的关注,但将其用作荧光染料的情况没有很多报道。(参见(a)P. F. Wang, S. K. Wu, J. Photochem. Photobiol. A86(1995)109. (b)C-G Niu 等. Analytica Chimica Acta577(2006)264-270,其全部教导各通过引用并入本文)。在本文中,我们报道了通过固相支持合成方法合成的新荧光查耳酮化合物。本发明的一个实施方案是由以下化学式表示的化合物(表示为 CDgreen4(或 CDg4), $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 430/560\text{nm}$)或其盐:

[0025]



[0026] 在基于饲养细胞的培养系统中,CDgreen4 选择性地对胚胎干细胞 (ESC) 和 iPSC 进行染色。

[0027] 本发明的一个实施方案是分离胚胎干细胞的方法,包括用本发明的查耳酮衍生物或其盐对所述细胞进行染色的步骤。在一个具体的实施方案中,所述查耳酮衍生物是 CDg4 或其盐。

[0028] 可以通过免疫细胞化学方法监测胚胎干细胞 (ESC) 的各个阶段。ESC 可具有以下特征:POU 转录因子的成员 Oct-3/4(也称为 Oct-3 或 Oct-4) 以及 Nanog 的高水平表达。需要关键量的 Oct-3/4 和 Nanog 表达以维持干细胞多能性。当诱导 ESC 分化时,Oct-3/4 和 Nanog 下调,已证实这对于正常和多样的发育程序而言是必要的。

[0029] 在用本发明的查耳酮化合物对 ESC 进行染色之后,细胞可以被分选。细胞表面抗原和碱性磷酸酶是生物标志物,并且可用于干细胞的确证。我们通过 CDg4 用下述段落所述的生物标志物进行分选后完成了该确证实验。

[0030] 未分化状态的 ES 细胞通常的特征为细胞表面抗原 SSEA-1、SSEA-3 和 SSEA-4 的表达。SSEA-1 表达于八细胞阶段的植入前阶段鼠胚胎的表面,并且见于畸胎瘤干细胞的表面上而非其分化衍生物上。SSEA-3 和 SSEA-4 在卵子发生过程中合成,并且存在于卵母细胞、受精卵和早期分裂阶段胚胎的膜中。已提出这些碳水化合物相关分子的生物作用是在发育过程中控制细胞表面的相互作用。未分化的灵长类动物 ES 细胞、人 ES 细胞和人胚胎癌 (EC) 细胞表达 SSEA-3 和 SSEA-4,但不表达 SSEA-1。但是未分化的小鼠 ES 细胞表达 SSEA-1,但不表达 SSEA-3 或 SSEA-4。

[0031] 碱性磷酸酶是血液、肠、肝和骨细胞中的酶,并且作为糖蛋白的膜结合同工型存在,它们具有共同的蛋白质结构但碳水化合物含量不同。这些酶大多在碱性 pH 下活化并且因此而得名。已表明未分化的人 EC、ES 和胚胎生殖 (EG) 细胞表达非常高水平的碱性磷酸酶的肝/骨/肾同工酶。在干细胞分化之后,碱性磷酸酶的表达水平降低。

[0032] “烷基”是指具有 1 至 16 个碳原子的任选取代的饱和脂肪族支链或具有直链单价烃基。作为替代地,烷基基团可以具有 1 至 11 个碳原子、1 至 6 个碳原子、1 至 4 个碳原子、4 至 16 个碳原子、6 至 12 个碳原子、6 至 10 个碳原子或 10 至 16 个碳原子。例如,“(C1-C6)

烷基”是指以线性或具有支链的形式排布的 1 至 6 个碳原子的基团。“(C1-C6) 烷基”包括甲基、乙基、丙基、丁基、戊基和己基。

[0033] 本文所用术语“烯基”是指直链或具有支链的非环烃,其具有 2 至 16 个碳原子,并且具有至少一个碳-碳双键。作为替代地,烯基基团可具有 2 至 12 个碳原子、2 至 6 个碳原子、2 至 4 个碳原子、4 至 16 个碳原子、6 至 12 个碳原子、6 至 10 个碳原子或 10 至 16 个碳原子。烯基基团可以在任意可取代的氢原子处被一个或更多个取代基任选取代。例如,可以将 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 的氢原子用氟取代以产生 $-\text{CF}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}=\text{CFH}$ 、 $-\text{CH}=\text{CF}_2$ 、 $-\text{CF}=\text{CFH}$ 、 $-\text{CH}=\text{CF}_2$ 或 $-\text{CF}=\text{CF}_2$ 。

[0034] 本文所用术语“炔基”是指直链或具有支链的非环烃,其具有 2 至 16 个碳原子并且具有至少一个碳-碳三键。作为替代地,炔基基团可具有 2 至 12 个碳原子、2 至 6 个碳原子、2 至 4 个碳原子、4 至 16 个碳原子、6 至 12 个碳原子、6 至 10 个碳原子或 10 至 16 个碳原子。炔基基团可以在任意可取代的氢原子处被一个或更多个取代基任选取代。

[0035] “卤素”和“卤代”在本文中互换使用,并且均指氟、氯、溴或碘。本文所用的卤代(C₁-C₁₆)烷基是指用一个或更多个卤素基团取代的(C₁-C₁₆)烷基。卤代(C₁-C₄)烷基的实例包括但不限于 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CCl}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCl}_3$ 。

[0036] “烷氧基”是指通过氧连接原子连接的烷基。“(C1-C6)-烷氧基”包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基和己氧基。

[0037] “卤代烷基”和“卤代环烷基”包括单、多和全卤代烷基基团,其中各卤素独立地选自氟、氯和溴。

[0038] “碳环基”是指只具有环碳原子的环基。“碳环基”包括 3-12 元饱和的或不饱和的脂肪族环烃环或者 6-12 元芳环。碳环基是具有指定数目的碳原子的饱和或不饱和脂肪族环烃环或者芳烃环。碳环基包括环烷基、环烯基、环炔基和芳基。

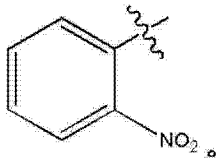
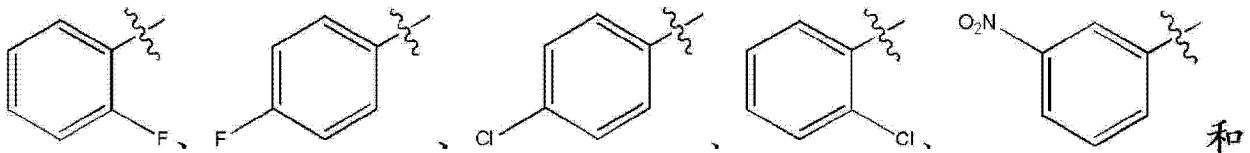
[0039] “环烷基”是指饱和的脂肪族环烃环。因此,“C₃-C₉环烷基”是指(3-9 元)饱和脂肪族环烃环的烃基。C₃-C₉环烷基包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基和环壬基。

[0040] “环烯烃”是指在环中具有一个或更多个双键的脂肪族环烃环。例如,环己烯是环烯烃。

[0041] “环炔烃”是指在环中具有一个或更多个三键的脂肪族环烃环。

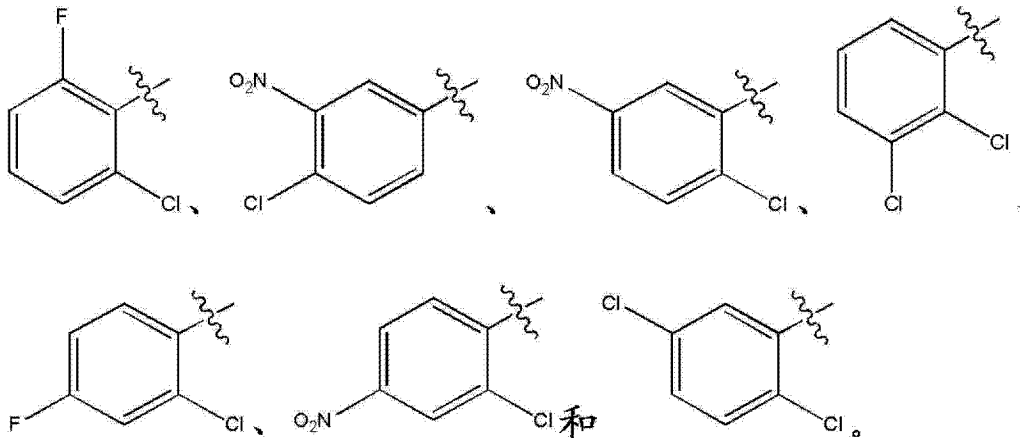
[0042] “芳基”或“芳族”是指芳族单环或多环(例如,双环或三环)碳环体系。在一个实施方案中,“芳基”是 6-12 元单环或双环体系。芳基体系包括但不限于苯基、萘基、茚基、茚基、萘基和蒽基。芳基环被独立地选自以下的一个或更多个基团任选取代:卤素、 NO_2 、 $-\text{NHC}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、 $-\text{OC}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、 $-\text{CO}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、(C₁-C₁₀) 烷基、卤代(C₁-C₁₀) 烷基、(C₁-C₁₀) 烷氧基、 $-\text{S}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、(C₃-C₉) 环烷基、芳基和苯氧基。更特别地,芳基环是苯基,并且被独立地选自以下的一个、两个、三个、四个或五个基团任选取代:卤素、 NO_2 、 $-\text{NHC}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、 $-\text{OC}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、(C₁-C₁₀) 烷基、卤代(C₁-C₄) 烷基、(C₁-C₁₀) 烷氧基和苯基。取代的苯环可以是单取代的,并且包括例如以下结构:

[0043]



取代的苯环可以是二取代的,并且包括例如以下结构:

[0044]

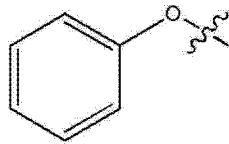


[0045] 类似地,苯环可以任选地包括相同或不同的三个、四个或五个取代基。

[0046] 本文所用术语“芳氧基”是指“芳基-O-”基团,其中芳基如上所定义。芳氧基的实例包括苯氧基或萘氧基基团。

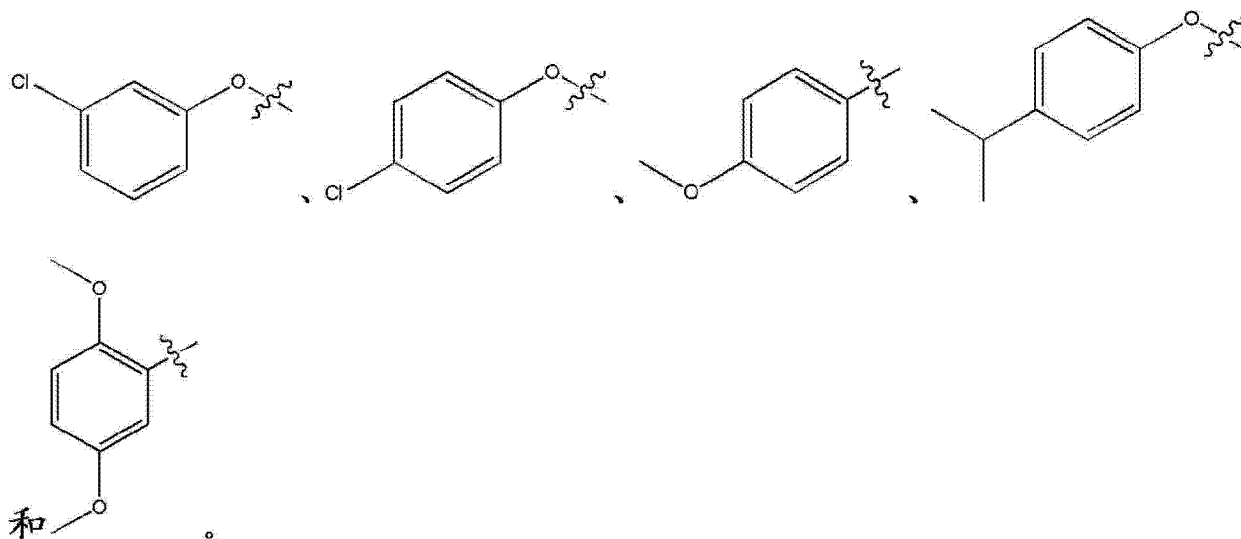
[0047] “苯氧基”是指通过氧原子连接的苯环,并且由以下结构式来表示:

[0048]



[0049] 其中 ξ 表示与剩余分子的连接。苯氧基部分可以被独立地选自以下的一个、两个、三个、四个或五个基团任选取代:卤素, NO_2 , $-\text{NHCO}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、 $-\text{OCO}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基、 $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 烷基、卤代 (C_1-C_4) 烷基、 $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ 烷氧基和苯基。取代的苯氧基的实例包括例如以下代表性化学结构:

[0050]



[0051] “杂”是指用至少一个选自 N、S 和 O 的杂原子替换环体系中的至少一个碳原子成员。“杂”还指替换非环体系中的至少一个碳原子成员。杂环体系或杂非环体系可以具有由杂原子替换的 1、2、3 或 4 个碳原子成员。

[0052] “杂环基”是指环 4-12 元饱和或不饱和脂肪族环或芳环，其包含独立地选自 N、O 或 S 的 1、2、3、4 或 5 个杂原子。当一个杂原子是 S 时，其可以任选地为单氧化或二氧化（即， $-S(O)-$ 或 $-S(O)_2-$ ）。杂环基可以是单环、双环或多环。

[0053] “饱和的杂环基”是指没有任何程度的不饱和的脂肪族杂环基基团（即，没有双键或三键）。

[0054] 单环饱和杂环基的实例包括但不限于氮杂环丁烷、吡咯烷、哌啶、哌嗪、氮杂环庚烷、六氢嘧啶、四氢呋喃、四氢吡喃、吗啉、硫代吗啉、硫代吗啉 1,1- 二氧化物 (thiomorpholine 1,1-dioxide)、四氢-2H-1,2- 噻嗪、四氢-2H-1,2- 噻嗪 1,1- 二氧化物 (tetrahydro-2H-1,2-thiazine 1,1-dioxide)、异噻唑烷、异噻唑烷 1,1- 二氧化物 (isothiazolidine 1,1-dioxide)。

[0055] 双环杂环基具有两个环，它们共有两个邻近的环原子。第一环是单环杂环基并且第二环是单环碳环（如环烷基或苯基）或单环杂环基。例如，第二环是 (C_3-C_6) 环烷基，如环丙基、环丁基、环戊基和环己基。作为替代地，第二环是苯基。耦合的双环杂环基的实例包括但不限于八氢环戊 [c] 吡咯基、吡啶、异吡啶、2,3- 二氢-1H- 苯并 [d] 咪唑、2,3- 二氢苯并 [d] 噁唑、2,3- 二氢苯并 [d] 噻唑、八氢苯并 [d] 噁唑、八氢-1H- 苯并 [d] 咪唑、八氢苯并 [d] 噻唑、八氢环戊 [c] 吡咯、3- 氮杂双环 [3.1.0] 己烷和 3- 氮杂双环 [3.2.0] 庚烷。

[0056] 多环杂环基具有多于两个环，其中之一是杂环基（例如，产生三环环体系的三个环），以及具有至少一个共有环原子的相邻环。

[0057] “杂芳基”或“杂芳环”是指 5-12 元单价杂芳单环或双环环基。杂芳基包含独立地选自 N、O 和 S 的 1、2、3 或 4 个杂原子。杂芳基包括但不限于呋喃、噁唑、噻吩、1,2,3- 三唑、1,2,4- 三唑、1,2,4- 三唑、1,2,5- 噻二唑 1,1- 二氧化物 (1,2,5-thiadiazole 1,1-dioxide)、1,2,5- 噻二唑 1- 氧化物 (1,2,5-thiadiazole 1-oxide)、1,2,5- 噻二唑、1,3,4- 噁二唑、1,3,4- 噻二唑、1,3,5- 三唑、咪唑、异噻唑、异噁唑、吡唑、哒嗪、吡啶、吡啶-N- 氧化物 (pyridine-N-oxide)、吡嗪、嘧啶、吡咯、四唑和噻唑。双环杂芳基环包括但不限于吡啶

嗉、吡啶、异吡啶、吡啶、苯并咪唑、苯并噻唑、苯并噻吩、嘌呤、喹啉、异喹啉、噌啉、酞嗉、喹啉、喹噁啉、1,8-萘啶和蝶啶。

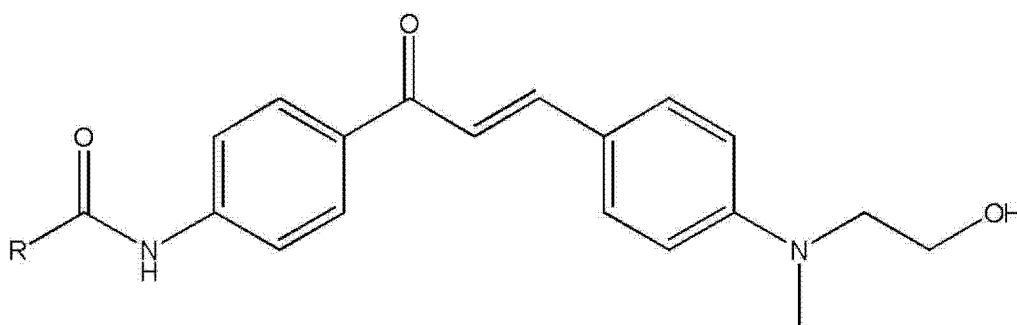
[0058] 示例

[0059] 查耳酮衍生物的设计

[0060] 大多数荧光化学传感器应答于周围基质或者通过特定分子识别事件采用其发射强度的增加或减少作为传感信号。因为其简单性和高敏感性，荧光传感器已被广泛地用作化学、生物和医疗应用的工具。通过两种不同的策略制备传感器。对于“分析物导向传感器 (Analyte Directed Sensors)”而言，荧光染料分子与针对特定分析物的经设计受体组合。作为替代地，“多样性导向传感器 (Diversity Directed Sensors)”通过组合染料文库而产生，并且可以针对多种染料组进行开发。

[0061] 本发明基于查耳酮结构或其盐的新荧光染料的合成：

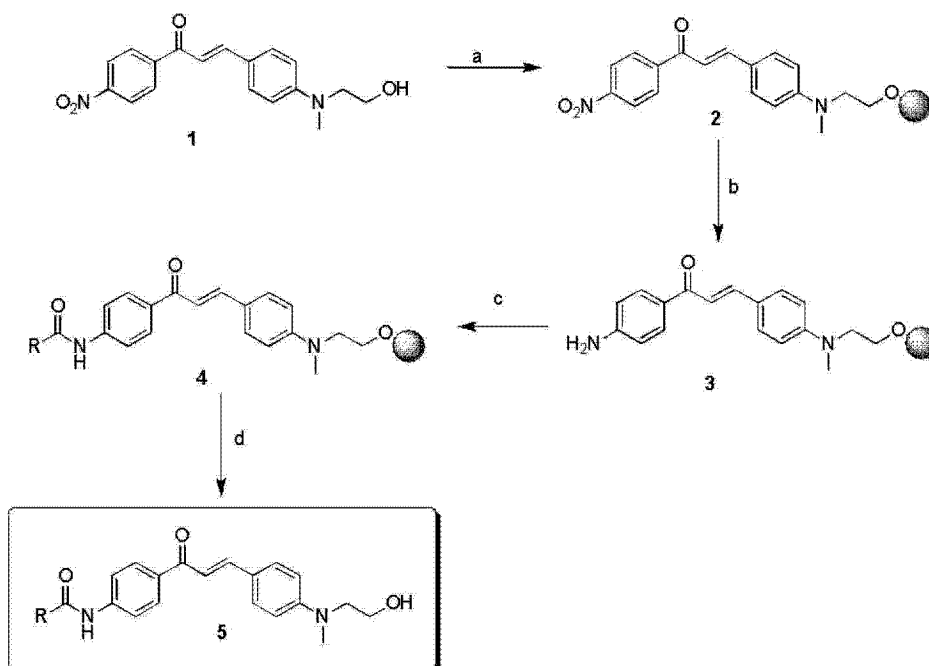
[0062]



[0063] 其中，R 如以上所限定，其显示取决于溶剂的极性和 pH 的荧光发射敏感性。中央酮基团具有电子接收性，这可以使其适于用作荧光发射染料。

[0064] 一般方法。所有反应均在氮正压于经烘箱干燥的玻璃器具中进行。除非另有指明，否则起始材料和溶剂购自 Aldrich 和 Acros Organics，并且在使用时无需进一步纯化。在 Merck60F254 硅胶板 (0.25mm 层厚度) 上进行分析 TLC，用紫外光进行可视化。在 Merck60 硅胶 (230-400 目) 上进行柱色谱。NMR 谱记录在 Bruker Avance300NMR 光谱仪上。化学位移以百万分之份数 (ppm) 为单位记录为 δ ，耦合常数记录为以赫兹 (Hz) 计的 J 值。用电喷雾离子化源来通过 Agilent Technologies 的 LC-MS 确定所有化合物的质量。用 Gemini XS 荧光读板器进行所有荧光测定。

[0065]



[0066] (a) ClTr-Cl 树脂, Py, DCM, 5 小时, 室温, (b) 2M $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 在 DMF 中, 室温, 16 小时, (c) RCOCl , Py, DCM, 30 分钟, (d) 2% TFA 在 DCM 中

[0067] 化学合成

[0068] 化合物 1 的合成: 向 4'-硝基苯乙酮 (100mg, 0.6mmol) 和 N,N'-2-羟乙基, 甲基硝基苯甲醛 (100mg, 0.55mmol) 在乙醇 (EtOH) 中的溶液中添加吡咯烷 (0.1mL), 用市售微波反应器 (150MW) 加热 3 分钟。冷却所得溶液, 并在室温下保持 2 小时, 随后, 沉淀出暗红色固体。过滤该固体, 用乙酸乙酯和己烷 (1 : 1) 溶液洗涤, 干燥为暗红色固体 (100mg, 60%)。所得固体用于后续反应而无需进一步纯化。

[0069] 化合物 2 的合成: 将 2-氯三苯甲基树脂 (200mg, 1mmol/g) 在 DCM 中膨胀。向树脂溶液中添加化合物 1 (100mg) 和 3 当量的吡啶, 将反应混合物搅拌过夜。过滤反应混合物, 在进行 MeOH 封闭 (capping) 步骤 (额外树脂氯化物去活化) 1 小时后, 用 DMF、MeOH、DCM 洗涤。用高真空干燥器干燥所洗涤的树脂, 使用而无需进一步纯化。

[0070] 化合物 5 的合成: 用 DMF 溶液中的 SnCl_2 水化物 (20 当量) 处理加载有化合物 2 的树脂。将反应混合物振荡过夜, 用 DMF、MeOH、DCM 洗涤。高真空干燥之后, 将树脂 (60mg) 等分入各 5mL 注射器。用 DCM 洗涤反应注射器, 将 DCM (1mL) 中的吡啶 (3 当量) 加载于注射器中, 然后加载 2mL 的酸性氯化物 (RCOCl), 以产生化合物 3, 使用化合物 3 而无需进一步纯化。将反应注射器振荡 30 分钟, 然后用 DCM、MeOH、DCM 洗涤。

[0071] 裂解方案: 加载 DCM 溶液中的 1% TFA 用于裂解。在 30 分钟内, 用裂解溶液进行孵育, 挤出等分试样, 并收集于 20mL 瓶中。添加 ACN 中的 2.5% 的氨水用于 TFA 中和, 然后经硅末端填充头 (silica end-filled tip) 过滤。除去溶剂后得到暗棕色固体, 通过 LC/MS 分析纯度。

[0072] 代表性化合物的表征

[0073] 根据一般合成步骤合成了 CDg4。

[0074] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 10.61 (s, 1H, NH), 8.11 (d, $J = 8.1$, 2H), 7.85 (d, $J = 8.1$, 2H), 7.66 (d, $J = 8.7$, 2H), 7.63 (bs, 2H), 6.74 (d, $J = 8.4$, 2H), 6.52 (m, 1H), 6.30 (d, $J = 16.5$,

1H), 5.80(d, J = 9.9, 1H), 5.74(s, 1H), 4.76(bs, 1H), 3.58(bs, 2H), 3.48(bd2H), 3.01(s, 3H); ¹³C-NMR(CDC13) δ 187.50, 163.94, 151.45, 144.95, 143.28, 133.70, 131.11, 129.80, 127.97, 122.10, 119.09, 116.17, 111.85, 104.90, 58.51, 54.27, 48.97. ESI-MS m/z (M+H) 计算值: 351.1, 实测值 351.1, FAB-MS MS m/z (M+H) 计算值: 351.1, 实测值 351.1.

[0075] 荧光特性测量

[0076] 制备 DMSO 中的 10 μM 溶液, 测量文库化合物的吸收和发射。图 3 是代表性吸光度和荧光谱。谱的信息如下:

谱信息	
ABS (nm)	429
激发(nm)	430nm
C(abs)	50μm
Em(nm)	563
最大 RFU	25709
C(em)	10μm
量子产额	0.202

[0078] 另一些查耳酮化合物的测量示于图 1 中。

[0079] 查耳酮衍生物的鉴定

[0080] 为了评价查耳酮衍生物作为 ESC- 选择性探针的应用, 在 384 孔微量细胞培养板上制备的小鼠 ESC (mESC) 和小鼠胚胎成纤维 (MEF) 饲养细胞中筛选 320 种查耳酮化合物。从基于图像的初级筛选中, 选择了 8 种化合物, 与 MEF 相比它们一直对 mESC 具有更强强度的染色。对于次级筛选, 用各选中 (hit) 化合物分别孵育 mESC 和 MEF, 然后使用流式细胞术进行分析。流式细胞术 mESC 与 MEF 点图重叠中的荧光强度和侧向散射 (SSC) 数据表明 CDg4 在 8 种选中化合物中对 mESC 最有选择性。使用 FACS 富集 mESC

[0081] 为了确认次级筛选数据, 用 CD4 孵育 mESC 与 MEF 的混合物。使用荧光活化细胞分选 (FACS) 来分选细胞混合物。荧光显微镜观察表明, 与 MEF 相比, CDg4 对在 MEF 饲养细胞中培养之活 mESC 的染色亮得多。数据表明, CD4 可用于从混合细胞群中富集 mESC。图 4 显示染有 CDg4 的 mESC 和 MEF 的流式细胞术点图图像。

[0082] CDg4 和 CellMask 质膜的共定位。在 37 °C 下, 将 mESC 用 2 μM CDg4、5ug/mL **CELLMASK®** 深红质膜染料和 4 μg/ml Hoechst 孵育 30 分钟, 用 PBS 洗涤两次。使用装配有 60× 物镜的 Nikon ECLIPSE Ti 荧光显微镜取得图像。

[0083] 使用 CDg4 分离早期 iPS 细胞以采用 DNA 微阵列研究 DNA 谱

[0084] 将 CDg4 施用至经诱导的多能干细胞 (iPSC), 其来自在 Oct4 (也称为 Pou5f1) 启动子控制下表达 GFP 的转基因小鼠的 MEF。CDg4 选择性地对 iPSC 集落进行染色。使用 FACS 来分离染有 CDg4 的早期 iPSC 细胞群 (图 2)。早期 iPSC 细胞群的分离有助于使用该细胞群的 DNA 微阵列进行基因谱分析。尽管已报道了混合物群的基因表达谱分析或使用细胞系的基因表达谱分析, 但是由于缺乏早期 iPSC 的直接标志物或探针, 所以无法用经纯化的早期

iPS 进行研究。

[0085] 将进行 DNA 微阵列分析以获得其基因表达谱,从而研究细胞重编程早期阶段和晚期阶段的差异的机制和事件。使用 FACS 分选出染有 CDg4 的细胞,分离它们的 RNA。使用 Illumina RNA 扩增试剂盒 (Ambion Inc.) 合成生物素化的 cRNA,并与 BeadChips 杂交。扫描阵列,使用 iScan 扫描系统和 GenePlex 软件进行分析。我们的 CDg4 将提供分离和富集特定类群的独特机会。

[0086] 一般实验方法:

[0087] 细胞培养。使用补充有 10% 胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺、100U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素、0.1mM 非必需氨基酸、0.1% β -巯基乙醇和 100U/ml 白血病抑制因子 (LIF, Chemicon) 的高葡萄糖 Dulbecco' s 经改良 Eagle' s 培养基 (DMEM),在包被有 0.1% 明胶的培养皿中培养 mESC。在用作饲养细胞之前,将 MEF 保持在与用于 mESC 的相同的培养基 (没有 LIF) 中并用丝裂霉素 C (10 μ g/ml) 处理。

[0088] 基于图像的细胞筛选。将 MEF 铺板于包被有 0.1% 明胶的 384 孔微孔细胞培养板 (Greiner bio-one, Germany) 上。在接下来的一天,将 mESC 铺板在有 MEF 饲养细胞和无饲养细胞的孔中以过夜培养,然后用 1 μ M 的查耳酮荧光化合物孵育。0.5 小时、24 小时和 48 小时之后,使用 ImageXpressMICRO 摄像系统 (Molecular Devices) 取得 FITC 荧光和明场图像。

[0089] 流式细胞术和 FACS。在 2 μ M 选中化合物 (包括 CDg4) 的存在下,将 MEF 和 mESC 在 60mm 培养皿中培养 1 小时。通过胰蛋白酶处理收获细胞,用 PBS 洗涤,重悬于 PBS 中。在流式细胞仪 (BDTM LSR II) 上以 FITC (在 530nm 处激发,在 560nm 处发射) 测量细胞的荧光强度。使用 FlowJo7 (Three Star Inc.) 重叠各细胞类型的点图图像。对于 FACS,在相同的皿中培养 MEF 和 mESC,制备上述的样品用于流式细胞术。使用 FACS 仪 (BD FACSAria™) 收集进入 SSClow CDgreen4bright 和 SSChigh CDgreen4dim 区的细胞。

[0090] iPSC 的产生。将逆转录病毒包装细胞 PlatE 细胞保持在包含 10% FBS、100U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素、10 μ g/ml 杀稻瘟菌素 S 和 1 μ g/ml 嘌呤霉素的 DMEM 中。就逆转录病毒的产生而言,使用 Lipofectamine2000™ (Invitrogen) 将 40 μ g 各表达小鼠 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 的各逆转录病毒载体一起转染入以 8×10^6 细胞 / 10cm 细胞培养皿的密度铺板的 PlatE 细胞中,在只含 10% FBS 的 DMEM 中培养过夜。在转染 5 小时后将培养基更换为正常维持培养基,再在 37°C 下于 5% CO₂ 和 95% 空气的潮湿气氛中孵育。转染后 48 小时收获培养上清液,经 0.45 μ m 注射器式过滤器过滤,通过使用 Amicon Ultra-15 离心过滤器单元 (Millipore) 进行浓缩,在 -80°C 下贮存直至使用。对于重编程而言,从 E13.5B6; CBA-Tg (Pou5f1-EGFP) 2Mnn/J 小鼠 (Jackson Laboratory) 胚胎制备的 MEF 以 3×10^4 细胞 / 孔的密度铺板在 24 孔板中,并在 8 小时后用逆转录病毒混合物感染。添加浓度为 10 μ g/ml 的聚凝胺 (Sigma) 以增加病毒吸收。48 小时后通过胰蛋白酶消化收获受感染的 MEF,并铺板到经丝裂霉素 C 处理的 MEF 饲养细胞。将细胞保持在 mESC 培养基中,每天更换培养基直至指定时间点。

[0091] 虽然已特别地示出本发明并参照其示例性实施方案进行了描述,但是本领域技术人员将理解可以对其形式和细节进行多种变化而不脱离由所附权利要求书涵盖的本发明范围。

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 质量 (计算值)	质量 质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (5μM)
CLA-1		429.2	429.0	431	560	126061	0.190
CLA-2		411.2	411.0	428	555	25115	0.171
CLA-4		437.2	437.0	431	565	96339	0.146
CLA-5		446.2	446.0	433	551	75879	0.003
CLA-6		381.2	381.0	427	557	37091	0.200
CLA-7		351.2	351.0	429	563	23564	0.202
CLA-8		369.2	369.0	429	556	27442	0.164
CLA-10		353.2	353.0	427	554	28994	0.181
CLA-12		379.2	379.0	428	556	34036	0.208
CLA-14		451.2	450.9	431	565	37479	0.150

图 1

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (5 μ M)
CLA-15		471.1	470.9	433	568	49115	0.130
CLA-16		458.2	458.0	431	593	127564	0.182
CLA-17		437.2	437.0	432	564	46545	0.147
CLA-18		545.1	544.8	431	567	56533	0.149
CLA-20		480.1	479.9	432	544	67152	0.010
CLA-22		487.2	486.9	432	563	40970	0.048
CLA-23		497.1	498.8	433	561	26376	0.117
CLA-24		437.2	436.9	432	564	40970	0.131
CLA-25		461.2	460.9	430	551	12412	0.016

图1(续)

查耳酮文库列表

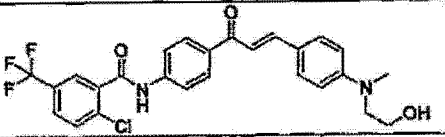
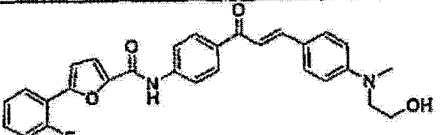
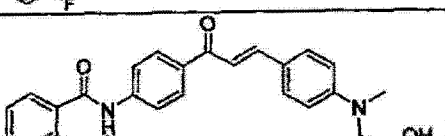
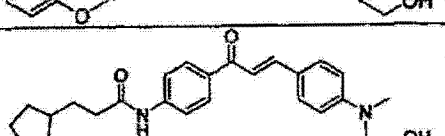
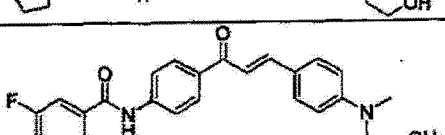
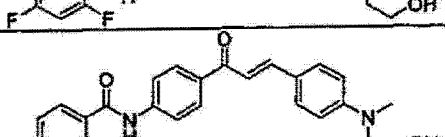
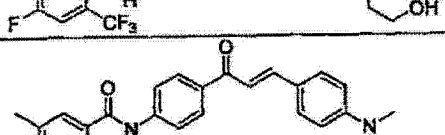
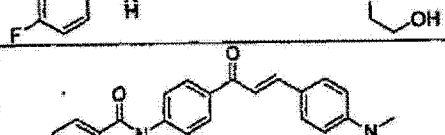
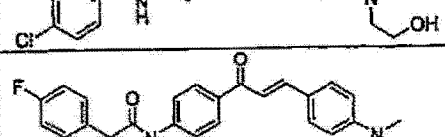
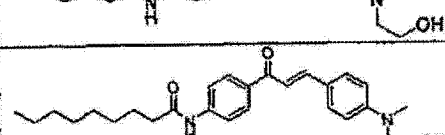
编码	结构	质量 量 (计算值)	质量 量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (Φ_{fl})
CLA-26		503.1	504.1	431	564	50715	0.129
CLA-27		485.2	485.0	431	567	61430	0.133
CLA-28		431.2	431.0	430	561	54642	0.154
CLA-29		421.2	421.1	428	557	46303	0.163
CLA-31		455.2	454.9	431	562	32388	0.118
CLA-32		487.2	486.9	431	560	56970	0.146
CLA-33		433.2	433.0	430	563	53236	0.148
CLA-35		435.1	434.9	431	562	48485	0.154
CLA-36		433.2	433.0	429	557	39952	0.161
CLA-37		437.3	437.1	427	554	17648	0.148

图1(续)

查耳酮文库列表

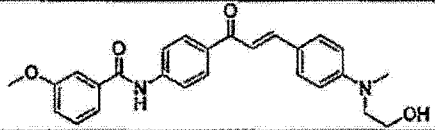
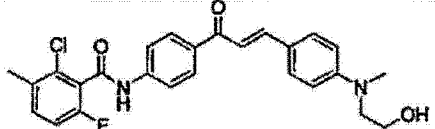
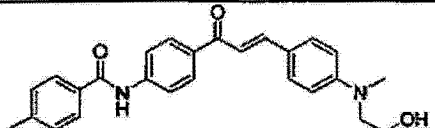
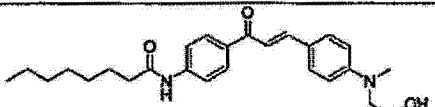
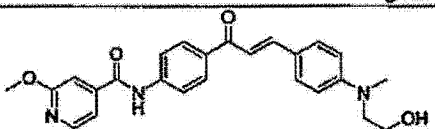
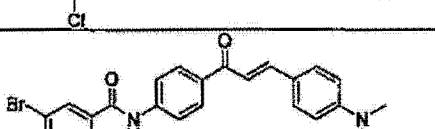
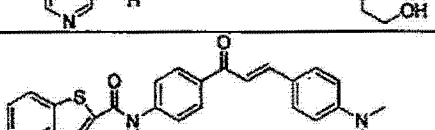
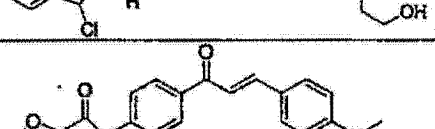
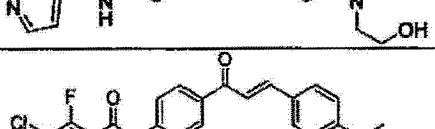
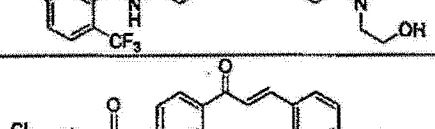
编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	λ _{max} (nm)	λ _{min} (nm)	Ext Coeff	量子产额 (5μM)
CLA-38		431.2	431.0	431	562	52461	0.150
CLA-41		467.1	466.9	431	563	56533	0.131
CLA-42		415.2	415.0	430	562	59103	0.140
CLA-44		423.3	423.1	428	556	45382	0.139
CLA-45		466.1	465.9	432	550	58861	0.018
CLA-46		480.1	479.9	431	581	56824	0.039
CLA-47		491.1	490.9	431	555	27200	0.027
CLA-49		392.2	392.0	433	569	47806	0.054
CLA-50		521.1	520.9	431	563	50279	0.118
CLA-51		453.1	452.9	431	563	16970	0.111

图1(续)

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (μM)
CLA-52		465.2	464.9	430	562	59830	0.132
CLA-53		527.1	526.8	431	564	71176	0.159
CLA-54		431.2	431.0	430	559	74036	0.146
CLA-55		473.2	473.0	430	561	73212	0.130
CLA-57		551.1	550.7	432	568	78885	0.091
CLA-58		457.2	457.0	429	561	51103	0.141
CLA-59		509.1	508.9	430	539	42133	0.054
CLA-61		407.2	407.0	429	553	57897	0.174
CLA-62		471.1	470.9	432	564	62061	0.127
CLA-64		419.2	418.9	430	565	21091	0.166

图1(续)

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (μM)
CLA-65		419.2	419.0	431	565	60655	0.136
CLA-66		467.2	466.9	431	567	67006	0.138
CLA-68		453.1	452.9	431	566	69721	0.128
CLA-69		437.2	436.9	431	564	49455	0.129
CLA-70		448.2	447.9	431	565	62061	0.133
CLA-71		429.2	429.0	429	557	51248	0.135
CLA-72		445.2	445.0	429	561	61673	0.142
CLA-73		480.1	479.8	432	540	67830	0.008
CLA-74		487.2	486.9	431	560	57261	0.050
CLA-75		487.1	486.8	431	564	26521	0.119

图1(续)

查耳酮文库列表

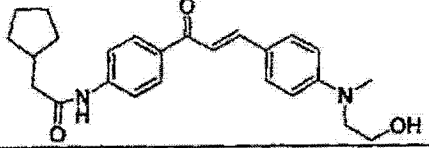
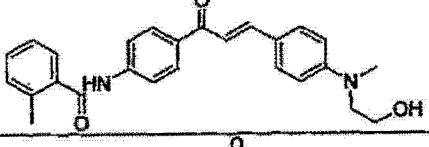
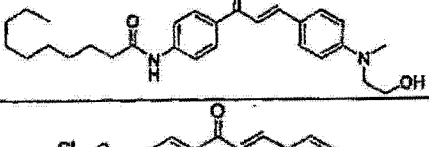
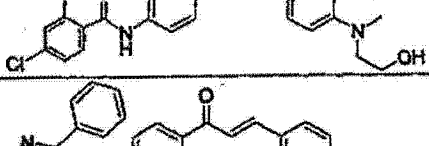
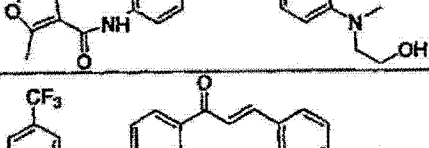
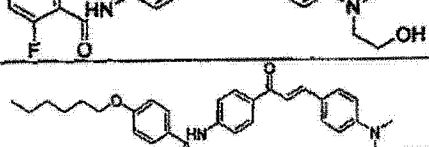
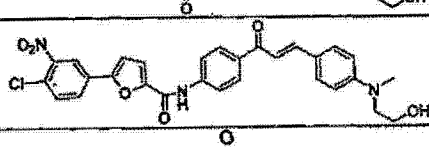
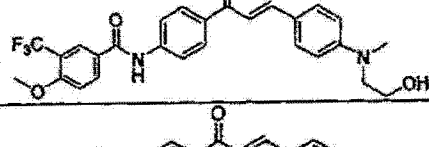
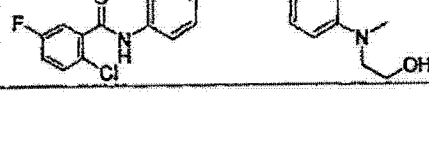

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (5 μ M)
CLA-76		407.2	407.0	429	556	55127	0.159
CLA-77		415.2	415.0	430	562	87273	0.136
CLA-78		451.3	451.0	427	555	61770	0.127
CLA-79		469.1	468.9	431	564	88097	0.117
CLA-80		482.2	482.0	431	561	84024	0.120
CLA-81		487.2	486.9	431	563	85915	0.078
CLA-82		501.3	501.0	429	561	89503	0.155
CLA-83		546.1	545.8	430	545	82667	0.020
CLA-84		499.2	498.9	431	563	88291	0.138
CLA-85		453.1	452.9	429	565	16000	0.137

图1(续)

查耳酮文库列表

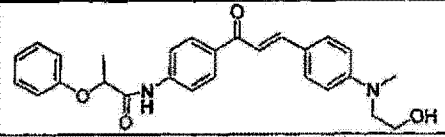
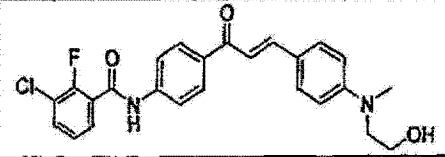
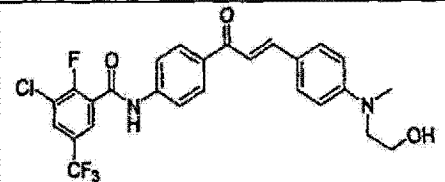
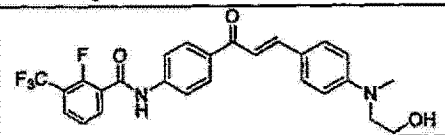
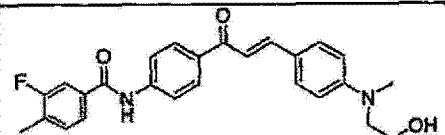
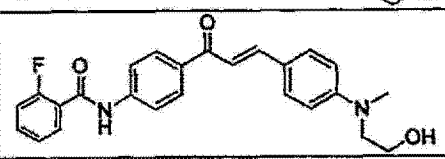
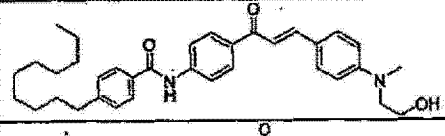
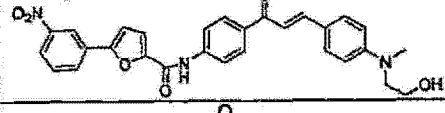
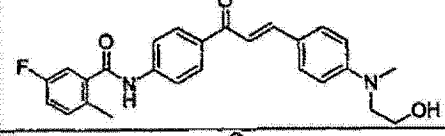
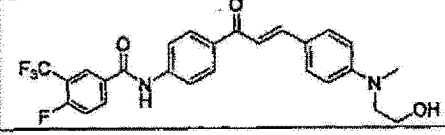
编码	结构	质量 量 (计算值)	质量 量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (Φ_{Flu})
CLA-86		445.2	445.0	430	562	66861	0.125
CLA-87		453.1	452.9	432	566	87418	0.107
CLA-88		521.1	520.8	433	563	92170	0.043
CLA-90		487.2	486.9	432	565	95952	0.102
CLA-91		433.2	433.0	432	566	92170	0.116
CLA-92		419.2	418.9	431	564	117285	0.121
CLA-94		541.3	541.2	429	563	56145	0.134
CLA-95		512.2	511.9	432	549	160242	0.016
CLA-96		433.2	433.0	431	562	119127	0.135
CLA-97		487.2	486.9	432	565	56679	0.126

图1(续)

查耳酮文库列表

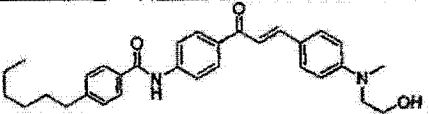
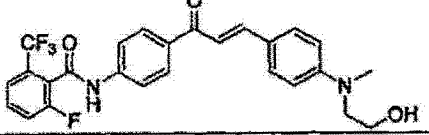
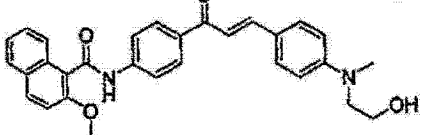
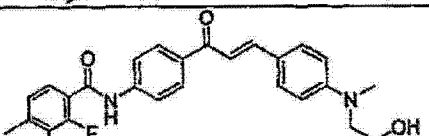
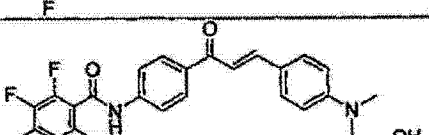
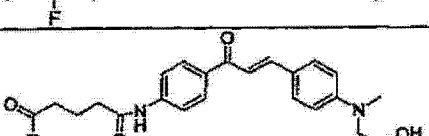
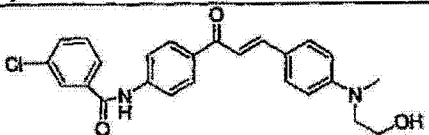
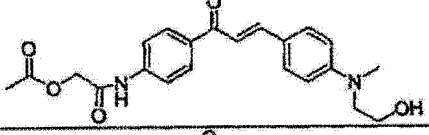
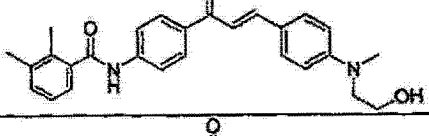
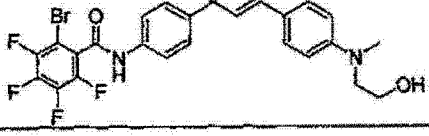
编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	摩尔 质量 (5 μ M)
CLA-98		485.3	485.0	428	562	115345	0.120
CLA-99		487.2	486.9	431	565	81067	0.107
CLA-100		495.2	495.0	430	563	83879	0.148
CLA-102		451.2	451.0	431	564	78255	0.135
CLA-103		491.1	490.9	432	570	38642	0.110
CLA-104		425.2	425.0	429	559	36945	0.179
CLA-105		435.1	434.9	431	565	52800	0.163
CLA-106		397.2	397.0	427	558	17115	0.193
CLA-107		429.2	429.0	429	562	55661	0.183
CLA-108		551.1	550.8	432	568	45042	0.125

图1(续)

查耳酮文库列表

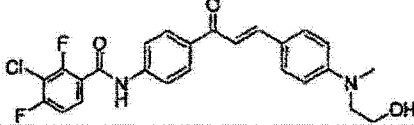
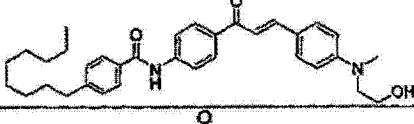
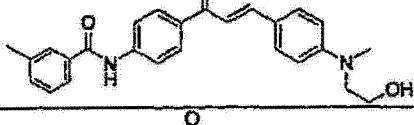
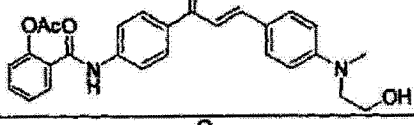
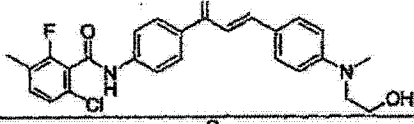
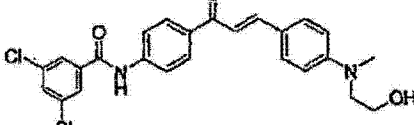
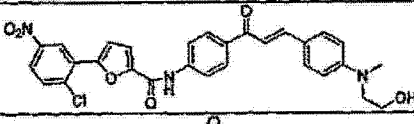
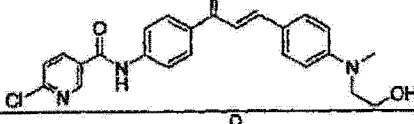
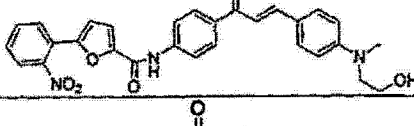
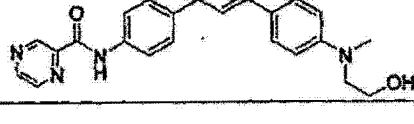
编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (5μM)
CLA-109		471.1	470.9	432	568	49697	0.117
CLA-110		527.3	527.0	428	560	40679	0.129
CLA-111		415.2	415.0	430	561	53867	0.167
CLA-112		459.2	458.9	430	563	54594	0.161
CLA-114		467.1	466.9	431	563	54691	0.155
CLA-115		469.1	468.9	431	563	55758	0.076
CLA-116		546.1	545.9	432	544	139588	0.006
CLA-117		436.1	435.9	431	565	45091	0.132
CLA-119		512.2	511.9	431	547	60994	0.015
CLA-120		403.2	402.9	431	542	35782	0.026

图1(续)

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (μM)
CLA-121		469.1	468.9	431	565	62061	0.129
CLA-122		479.1	478.9	431	564	59782	0.127
CLA-123		537.2	536.9	432	559	59539	0.023
CLA-124		429.2	429.0	428	556	55564	0.163
CLA-127		449.2	448.9	428	557	33503	0.168
CLA-128		465.2	464.9	430	559	64048	0.153
CLA-129		507.1	506.8	432	564	34085	0.052
CLA-130		473.2	473.0	429	560	55321	0.201
CLA-131		487.2	486.9	431	563	51539	0.153
CLA-132		534.2	534.0	427	553	49309	0.150

图1(续)

查耳酮文库列表

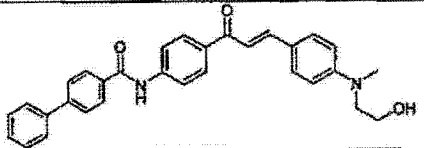
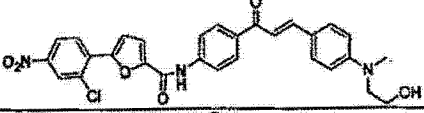
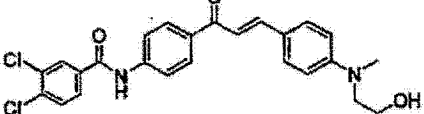
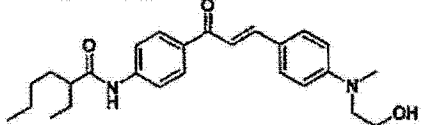
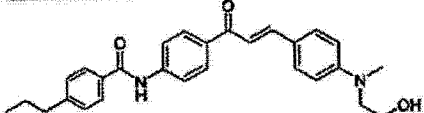
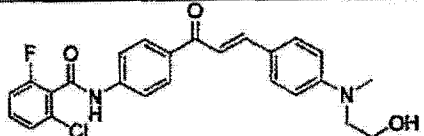
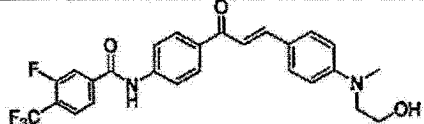
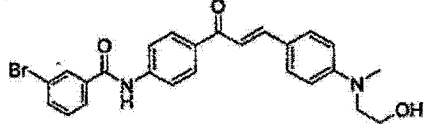
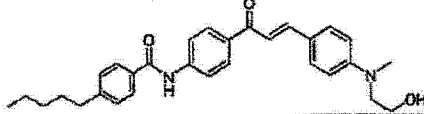
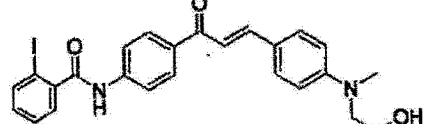
编码	结构	质量 量 (计算值)	质量 量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (μM)
CLA-134		477.2	477.0	439	582	129891	0.159
CLA-136		546.1	545.8	429	543	29139	0.029
CLA-137		469.1	469.0	425	563	18764	0.119
CLA-138		423.3	423.0	428	552	43539	0.203
CLA-140		443.2	443.0	428	560	41406	0.202
CLA-142		453.1	452.9	431	563	57164	0.165
CLA-143		487.2	486.9	431	545	44315	0.032
CLA-144		479.1	478.9	430	560	50473	0.187
CLA-145		471.3	471.0	429	562	44606	0.177
CLA-146		527.1	526.8	429	561	38158	0.178

图1(续)

查耳酮文库列表

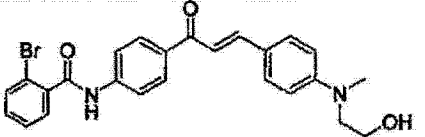
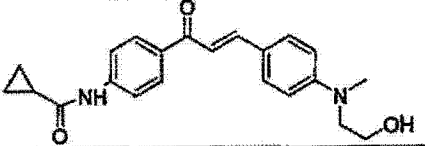
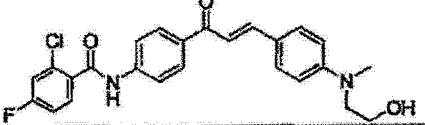
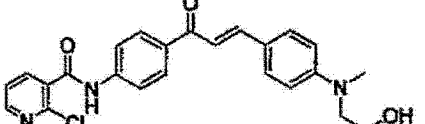
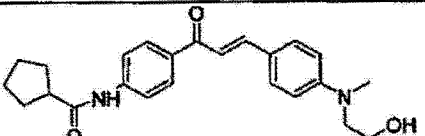
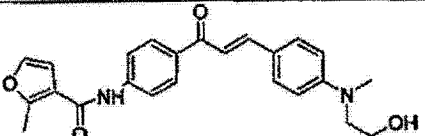
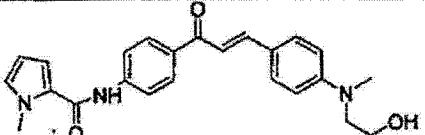
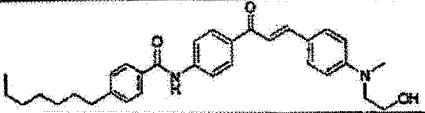
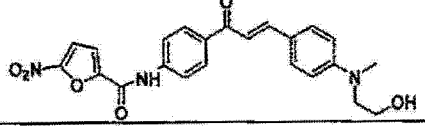
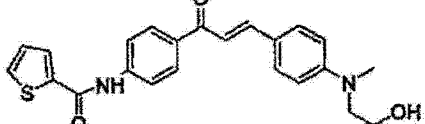
编码	结构	质量 量 (计算值)	质量 量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (ϕ_{fl})
CLA-147		479.1	478.8	430	562	52945	0.141
CLA-148		365.2	365.0	426	557	25309	0.177
CLA-150		453.1	452.9	431	563	52315	0.157
CLA-152		436.1	437.1	429	563	22109	0.171
CLA-153		393.2	394.2	426	553	26230	0.220
CLA-155		405.2	406.2	426	557	21333	0.179
CLA-156		404.2	404.0	428	556	38691	0.213
CLA-158		499.3	499.0	426	559	36461	0.182
CLA-159		436.1	436.0	429	555	45091	0.106
CLA-161		407.1	406.9	429	563	39321	0.141

图1(续)

查耳酮文库列表

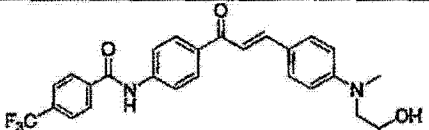
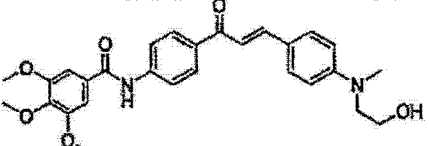
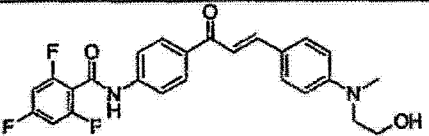
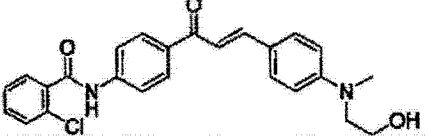
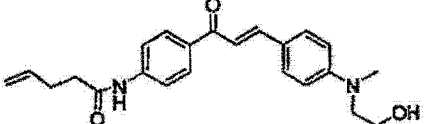
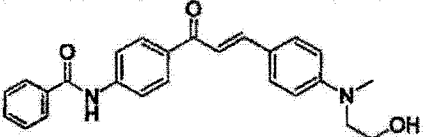
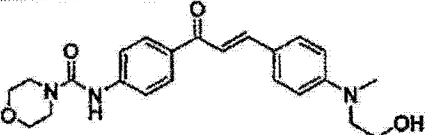
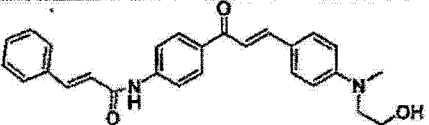
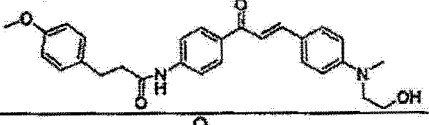
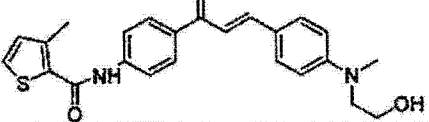
编码	结构	质量 量 (计算值)	质量 量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	产额 (μM)
CLA-164		469.2	468.9	431	565	58909	0.099
CLA-165		491.2	491.0	430	566	58327	0.136
CLA-166		455.2	454.9	433	565	58036	0.118
CLA-167		435.1	434.9	431	564	54933	0.147
CLA-169		379.2	379.0	428	557	43345	0.178
CLA-170		401.2	401.0	430	563	49261	0.175
CLA-171		410.2	410.0	425	537	70158	0.159
CLA-172		427.2	427.0	430	563	62448	0.041
CLA-173		459.2	459.0	429	558	72339	0.163
CLA-174		421.2	420.9	430	559	52121	0.137

图1(续)

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (Φ_{FL})
CLA-175		535.1	534.8	430	567	71612	0.079
CLA-176		450.2	449.9	432	568	67539	0.114
CLA-177		509.0	508.7	429	548	22497	0.022
CLA-178		406.2	406.0	431	569	42764	0.131
CLA-179		405.2	405.0	431	565	81600	0.147
CLA-180		365.2	365.0	429	562	47127	0.180
CLA-181		485.2	484.9	432	565	78788	0.168
CLA-182		535.1	534.8	431	564	60364	0.107
CLA-183		473.1	474.9	428	562	57552	0.177
CLA-185		479.3	479.0	414	552	18327	0.117

图1(续)

查耳酮文库列表

编码	结构	质量 (计算值)	质量 (实测值)	Abs (nm)	Em (nm)	Ext Coeff	量子产额 (μM)
CLA-186		527.1	526.8	431	569	50861	0.128
CLA-188		381.2	381.0	429	561	81988	0.125
CLA-190		409.2	409.0	428	561	66909	0.138
CLA-192		475.2	475.0	429	580	74036	0.158
CLA-193		473.2	473.0	432	565	52121	0.128
CLA-194		515.3	515.0	425	563	49358	0.131
CLA-195		391.2	391.0	430	566	56921	0.180
CLA-197		402.2	402.0	428	563	41600	0.172
CLA-203		463.3	463.0	423	557	32048	0.180
CLA-409		395.2	395.0	428	559	55467	0.153

图1(续)

查耳酮文库列表

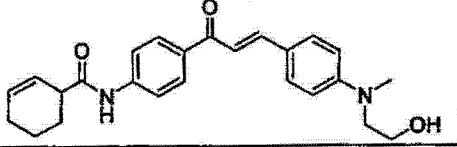
编码	结构	质量 质量 (计算值)	质量 质量 (实测值)	Abs (nm)	Ein (nm)	Ext Coeff	量子产额 (5 μ M)
CLA-410		405.2	405.0	428	562	56533	0.138

图1(续)

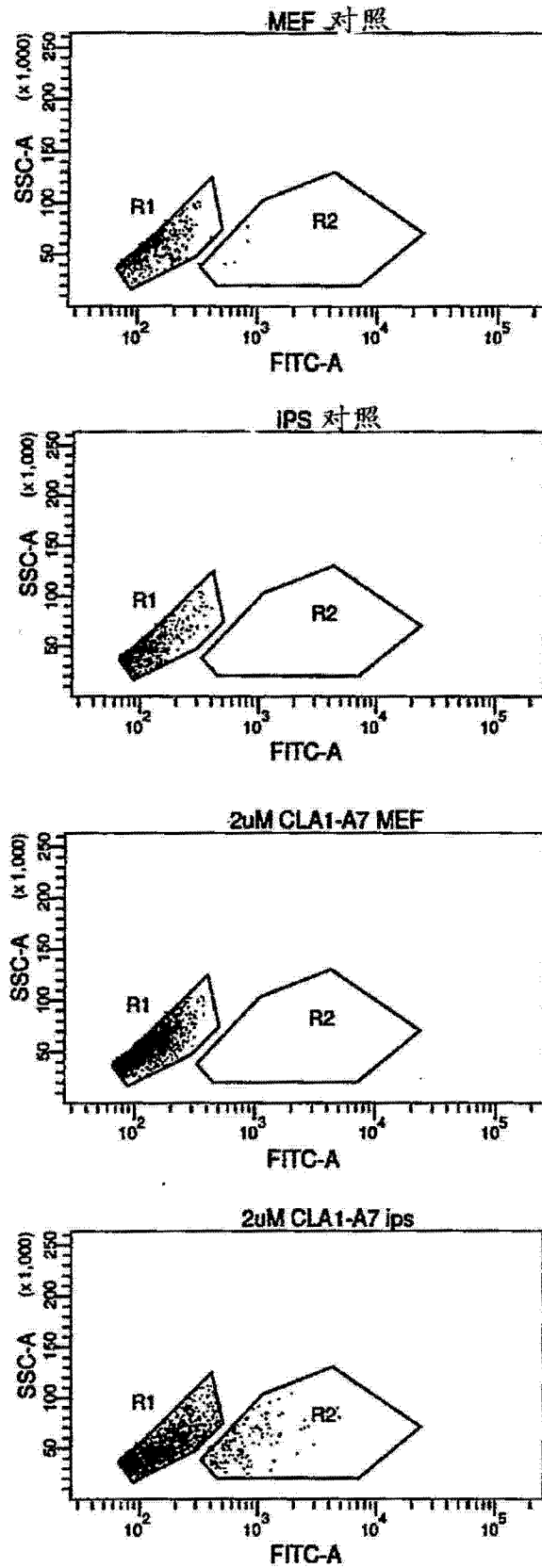


图 2

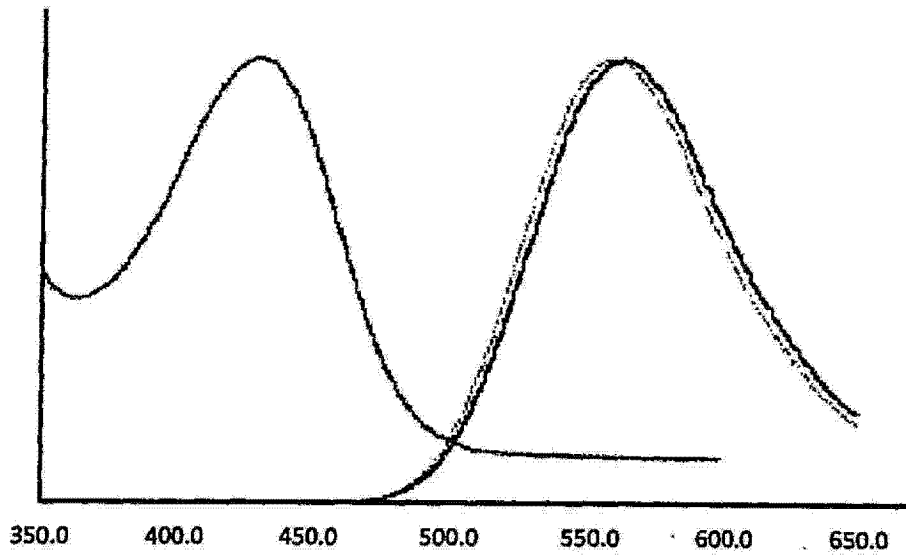


图 3

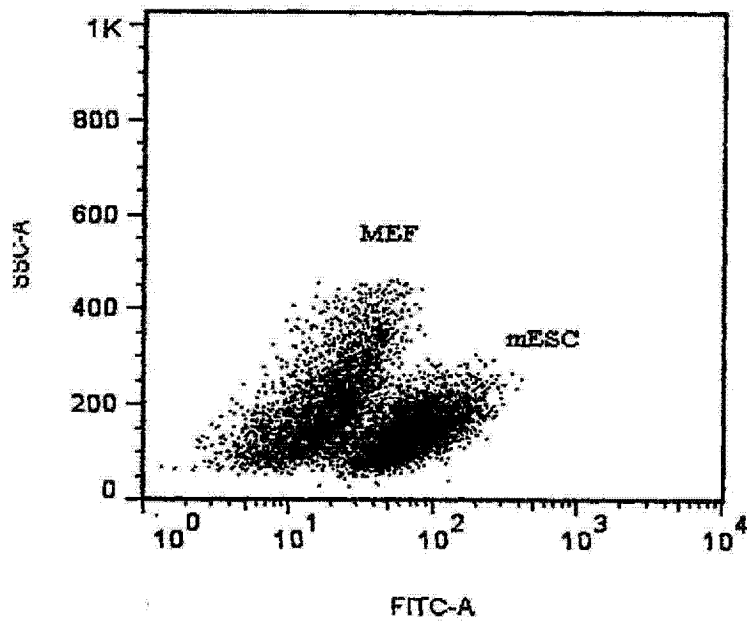


图 4