

荧光增强型共轭聚电解质的合成及对肝素的双通道检测*

吴燕梅¹ 石建兵^{1**} 佟 斌¹ 支俊格² 董宇平^{1**}

(北京理工大学¹ 材料学院² 化学学院 北京 100081)

摘 要 通过 Suzuki 偶联反应制备了含有四苯基乙烯和苯并噻二唑 2 种结构单元的阳离子型共轭聚电解质 **P1**, 并通过核磁共振氢谱确定了 2 种结构单元的比例为 0.803:0.197, 与投料比基本一致. 当在 **P1** 的水溶液中加入不良溶剂 THF 时, 在紫外光照下可以观察到其溶液颜色由土黄色(无聚集态)转变为橙黄色(聚集态). 利用 **P1** 在不同聚集态下的荧光强度和发光颜色变化, 可以实现对肝素的双通道检测. 当肝素逐渐滴加到 **P1** 的水溶液中, **P1** 的荧光发射强度随着肝素浓度的增加而线性增加, 且其最大发射峰峰位发生线性红移, 正负电荷饱和时强度达到最大且波长不再移动, 该性质可作为双通道检测信号来标定肝素的浓度, 从而提高肝素浓度检测的准确性. 动态激光光散射的测试以及肝素滴定紫外图谱的变化结果表明, 肝素与 **P1** 作用时聚集诱导发光和荧光共振能量转移两种作用共存, 从而导致了荧光强度的增强, 且伴随最大发射波长的红移.

关键词 四苯基乙烯, 苯并噻二唑, 肝素, 共轭聚电解质, 荧光共振能量转移

共轭聚合物的主链上具有离域的 π 电子, 其具有较强的吸光能力, 较好的荧光量子产率, 在荧光检测中显示出独特的优势, 已被广泛应用于化学或生物分子的检测中^[1]. 通过在共轭聚合物的主链上引入亲水性侧基, 如磺酸基、羧基、季铵盐基、糖基等, 可以赋予共轭聚合物良好的水溶性, 克服了传统共轭聚合物难溶于水相的弱点, 进一步拓宽了其在化学/生物传感器领域的应用^[2-11]. 目前研究较多的水溶性共轭聚合物有聚噻吩类(PT)、聚对苯撑乙烯类(PPV)、聚对苯撑乙炔类(PPE)及聚苕类(PF)等^[12-15], 并已广泛应用于各种物质的检测, 如金属离子^[16,17]、阴离子^[18]、有机小分子化合物^[19,20]、生物大分子^[21,22]等. 共轭聚合物的侧链上带有正电荷或负电荷, 即阳离子型或阴离子型的共轭聚电解质, 与带有相反电荷的生物大分子发生作用时, 可以通过构象转变引起吸收光谱或发射光谱的变化而达到检测的目的; 或者, 离子型共轭聚电解质与生物大分子作用时引起电子或能量的转移, 其光谱性质表现出明显的变化, 从而达到检测生物大分子的目的. 荧光共振能量转移(FRET)是最常

用的方法之一, 其通过在共轭主链上引入不同含量的给体与受体基团, 当其与生物大分子作用时给受体之间的距离会发生改变, 从而实现荧光发射能量的无损失转移, 其荧光光谱会有明显的变化, 甚至在裸眼状态下可以观察到溶液颜色的变化^[23], 从而实现方便快捷的生物大分子检测.

肝素是一种酸性黏多糖, 具有很好的抗凝作用, 临床医学上广泛用于防治血栓栓塞性疾病、心肌梗死、心血管手术、心脏导管检查、体外循环、血液透析等^[24,25]. 随着药理学及临床医学的发展, 肝素的应用范围与用量不断扩大, 而肝素的过量使用易导致自发性出血^[26]. 因此, 在肝素的使用过程中对其监测和控制十分重要^[27]. 传统的肝素检测方法主要有活化凝血时间、电位分析法和鱼精蛋白复合滴定等, 这些方法比较复杂且结果准确度不高^[28,29]. 近年来, Liu 课题组以水溶性共轭聚电解质为探针, 通过灵敏的荧光响应实现了对肝素浓度的定量及裸眼检测^[30-33]. 该方法响应时间快, 操作简单, 为临床医学中实时快速的检测肝素奠定了一定的理论基础. 不过, 当水溶性共轭聚电解质与肝素作用时会发生聚集, 导致

* 2012-04-16 收稿, 2012-06-21 修稿; 国家自然科学基金(基金号 21004004 和 51073026)、高等学校博士学科点专项科研基金(基金号 20101101120029 和 20091101110031)、教育部留学回国人员科研启动基金和北京理工大学优秀青年教师资助计划(基金号 2009Y0914)资助项目.

** 通讯联系人, E-mail: bing@bit.edu.cn; chdongyp@bit.edu.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2012.12108

部分荧光由于自身聚集而被淬灭, 从而降低了共振能量转移的效率, 对灵敏度也产生不利的影响。

2001 年, Tang 研究组^[34]发现一种名为硅杂环戊二烯的化合物在溶液状态下发光很弱, 当向溶液中加入非溶剂后, 体系变浑浊, 同时荧光强度急剧增大, 荧光量子效率显著升高, 这种现象被 Tang 等定义为聚集诱导发光 (aggregation-induced emission, AIE) 现象. AIE 现象与传统的荧光聚集淬灭现象正好相反, 因此引起了研究者的极大兴趣, 先后合成了一系列具有 AIE 特性的物质^[35,36]. 四苯基乙烯 (tetraphenylethene, TPE) 及其衍生物是典型的 AIE 化合物^[37-39], 其合成方法相对简单, 聚集状态下的发光性质优越, 被广泛应用于 AIE 小分子体系的设计中. 我们将 TPE 基团嵌入到共轭聚电解质中, 发现其具有聚集诱导发光增强 (AIEE) 的特性^[40]. 基于前面的研究基础, 我们利用 Pd 催化的偶联反应使 TPE 衍生物与苯并噻二唑 (BT) 发生共聚反应, 在共轭聚合物的主链引入受体单元 BT, 再对侧链进行后功能化处理, 赋予其良好的水溶性, 得到主链中同时含有给体 (TPE) 和受体 (BT) 结构单元的水溶性阳离子型共轭聚电解质 **P1**, 如示意图 2 中所示. 研究结果发现, 当 **P1** 与肝素大分子作用时, 其荧光发射强度会随着肝素浓度的增加而增强, 同时伴随着发射波长的红移. 通过肝素浓度的滴定研究表明, 其荧光发射强度的增强和波长的红移与肝素浓度均具有良好的线性关系, 该水溶性阳离子型共轭聚电解质 **P1** 具有双通道定量检测肝素的潜质, 有望开发成具有双通道检测功能的荧光探针传感材料。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

核磁共振氢谱 (¹H-NMR) 和碳谱 (¹³C-NMR) 在 ARX-400 型核磁共振仪 (Bruker 公司) 上测得. 质谱在 Voyager-DE STR 基质辅助激光解离飞行时间质谱仪上测得. 分子量采用美国 Waters 公司凝胶色谱仪测定, 流动相为 DMF, 柱温设定在 50℃, 流速为 1.0 mL/min, 以聚苯乙烯为标样. 紫外光谱在 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 (上海普析通用仪器公司) 上测得. 荧光光谱在 Cary Eclipse 荧光光谱仪 (美国 Varian 公司) 上测得. 聚集体直径在激光光散射仪

(ALV/Laser Vertriebsgesellschaft m. b. H 公司) 上测得.

1,2-二[4-(6-溴己氧基)苯基]-1,2-二(4-溴苯基)乙烯 (**M1**) 的合成路线见参考文献 [40]. 联硼酸频哪醇酯购自北京盛维特科技公司, 4,7-二溴-2,1,3-苯并噻二唑购于濮阳惠成化工有限公司, 四(三苯基磷)钼(0)和二氧六环购自 Alfa Aesar 公司, 肝素购自于百灵威公司, 无水碳酸钾购自国药集团, 以上试剂未经处理直接使用. 其他试剂均购自北京化学试剂公司. 实验用水为三次蒸馏水.

1.2 单体 1,2-二[4-(6-溴己氧基)苯基]-1,2-二(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二杂氧戊硼烷-2-基)苯基)乙烯 (**M2**) 的合成

称取化合物 **M1** (1.9411 g, 2.3 mmol), 联硼酸频哪醇酯 (1.7014 g, 6.7 mmol), 醋酸钾 (1.9628 g, 20 mmol) 以及 1,1-双(二苯基磷二茂铁)二氯化钼 (0.1683 g, 0.23 mmol) 加入到两口烧瓶 (100 mL) 中, 之后抽真空, 充氮气, 反复三次后在氮气保护下注入已除氧的二氧六环 50 mL, 加热升温至 80℃ 反应 22 h. 反应结束后, 过滤收集滤液, 用水和稀盐酸洗涤, 二氯甲烷萃取, 除去溶剂得粗产物. 粗产物采用层析柱色谱分离, 洗脱剂为二氯甲烷: 石油醚 (1:1, V/V), 所得物质经真空干燥后为白色固体 (0.5310 g), 产率为 24.5%. MS (MALDI-TOF) m/z : [**M**]⁺ 计算值 942.3, 实验值 942.3. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.52 (dd, 4H), 7.02 (dd, 4H), 6.87 (dd, 4H), 6.59 (dd, 4H), 3.88 (t, 4H), 3.41 (t, 4H), 1.95 ~ 1.83 (m, 4H), 1.82 ~ 1.69 (m, 4H), 1.52 ~ 1.45 (m, 8H), 1.32 (s, 24H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 157.55, 147.41, 147.15, 140.01, 136.22, 135.95, 134.09, 132.57, 130.80, 113.64, 83.67, 67.51, 33.77, 32.70, 29.15, 27.96, 25.33, 24.92.

1.3 聚合物 **P0** 的合成

称取单体 **M1** (101.8 mg, 0.12 mmol), **M2** (188.5 mg, 0.20 mmol), **M3** (23.5 mg, 0.08 mmol), 四(三苯基磷)钼 (7.4 mg, 0.006 mmol), 碳酸钾 (829.6 mg, 6.0 mmol) 放入 25 mL 聚合管中, 并以反口胶塞密封, 反复除氧 3 次后用注射器注入经除氧的甲苯 (4 mL) 和三蒸水 (3 mL), 缓慢升温至 98℃, 在氩气保护下反应 48 h. 反应

结束后, 冷却至室温, 加入二氯甲烷萃取, 有机相经过装有棉纤维的过滤滴管后沉入 250 mL 正己烷中, 经离心分离并真空干燥后得到红色固体产物 200.3 mg, 产率为 86.7%. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7.75 (s, 0.4H), 7.46 ~ 6.92 (m, 9.6H), 6.63 (s, 3.2H), 3.88 (s, 3.2H), 3.42 (d, 3.2H), 1.88 ~ 1.48 (m, 12.8H). GPC 分析(PS 为标样): 重均分子量 $M_w = 6300$, 多分散性指数 $d = 3.08$.

1.4 聚合物 **P1** 的合成

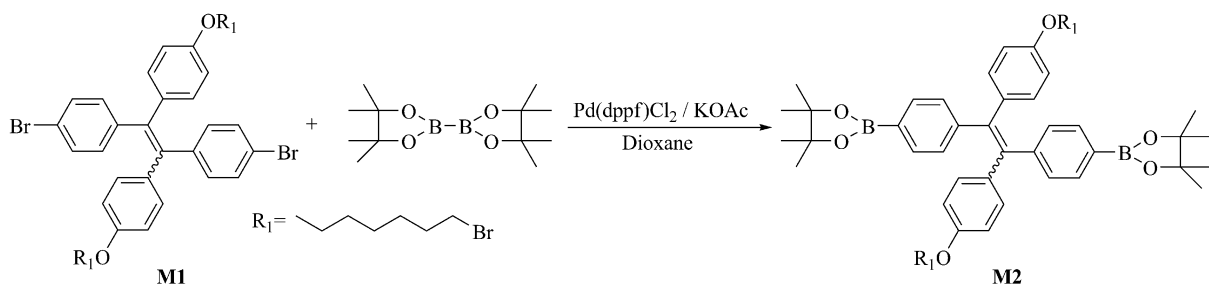
将聚合物 **P0** (45.9 mg) 溶解于 20 mL 四氢呋喃, 加入三甲胺的乙醇溶液 10 mL, 在常温下搅拌反应 24 h. 反应结束后旋干溶剂, 用甲醇溶解, 四氢呋喃沉淀、洗涤, 收集固体在室温下真空干燥得到红色产物 **P1** (50.1 mg), 收率为 93.8% (理论产率为所有侧基被 100% 季铵盐化). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , δ): 7.50 ~ 6.65 (m, 13.2H), 3.92 (s, 3.2H), 3.40 (m, 3.2H), 3.15 (t, 14.4H), 1.81 ~ 1.28 (m,

12.8H).

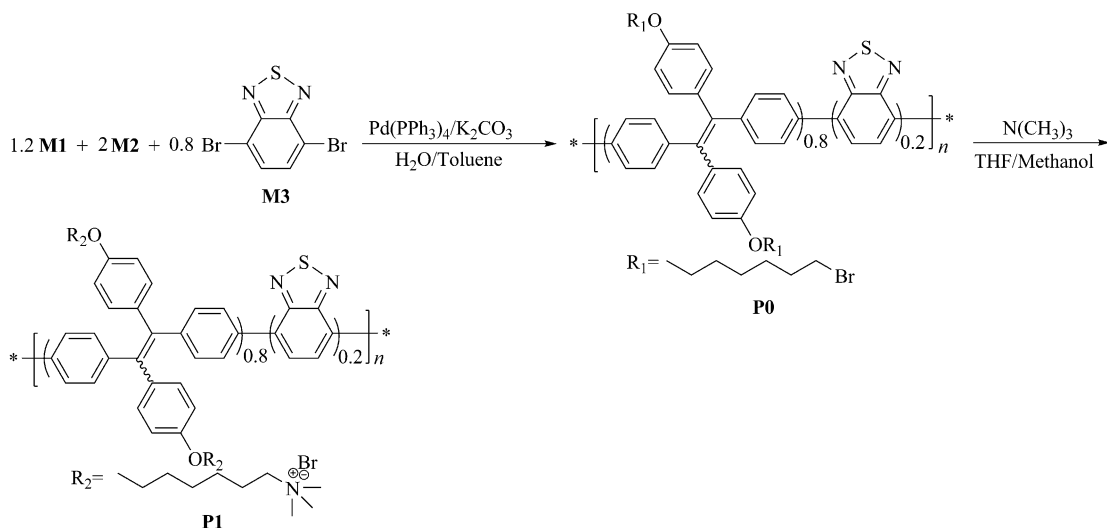
2 结果与讨论

2.1 单体及聚合物的合成与表征

单体 **M2** 的合成方法如示意图 1 所示, 其化学结构用核磁共振、高分辨质谱等分析技术进行了确定. 聚合物 **P1** 的合成路线如示意图 2 所示, 我们按 3 种单体摩尔比 (**M1**:**M2**:**M3** = 1.2:2.0:0.8) 投料, 在 Pd(0) 催化下通过 **M1** 和 **M3** 中的芳基溴与 **M2** 中的芳基硼酸酯发生 Suzuki 偶联反应, 制备得到含有四苯基乙烯(TPE)与苯并噻二唑(BT)结构单元的红色共聚物 **P0**, 该共聚物的组成利用核磁共振氢谱求出 TPE 与 BT 的比例, 如图 1 所示, 化学位移 $\delta = 6.6$ 左右的峰归属为 TPE 中与烷氧基相邻的 4 个 Ph-H, 化学位移 $\delta = 7.7$ 左右的峰归属为苯并噻二唑上的 2 个 Ph-H, 按积分面积计算得到 TPE: BT = 0.803:0.197, 共聚物中的组成与投料比基本一致. 另外, 共聚物 **P0** 的分子量通过 GPC 测定(PS 为标样), 其



Scheme 1 Synthetic route for **M2**



Scheme 2 Synthetic route for **P1**

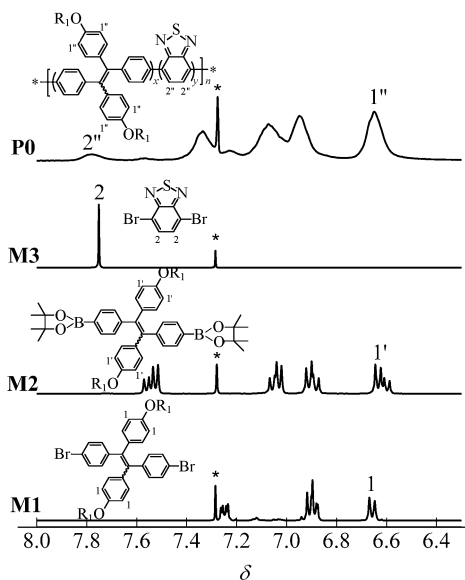


Fig. 1 ^1H -NMR spectra of **M1**, **M2**, **M3**, and **P0** in CDCl_3 (The solvent is marked with asterisks.)

重均分子量为 6300, 多分散性指数为 3.08. 在单体设计时引入了可后功能化的烷基溴官能团, 而共聚过程对此官能团无影响, 以便在 **P0** 的侧链上进行后功能化. 室温下 **P0** 与三甲胺反应即可将烷基溴基团转化为季铵盐基团, 该基团能够赋予共聚物良好的水溶性, 而且可以与含有负电性的生物大分子作用, 达到检测的目的. 通过季铵盐化反应将共聚物 **P0** 转化为共轭聚电解质 **P1**, 其季铵盐化率可以通过 **P1** 的核磁共振氢谱计算. 如图 2 所示, 通过氮原子相连的甲基 (H1) 与氧原子相连的亚甲基 (H7) 的积分面积, 采用公式 (1) 计算得到季铵盐化率 (QR), 计算结果约为 95%. **P1** 在水中具有良好的溶解性.

$$QR = (A_1/9)/(A_7/2) \quad (1)$$

2.2 光谱性质

首先, 对 **P1** 进行了紫外-可见吸收光谱和荧光发射光谱的测试, 其结果如图 3 所示. **P1** 具有 3 个吸收峰, 其中峰值为 268 nm 处的吸收为苯环的特性吸收峰, 峰值为 360 nm 处的吸收是由 **P1** 主链上的共轭结构的 $\pi-\pi^*$ 电子跃迁产生的, 在 440~500 nm 处出现苯并噻二唑基团的特征吸收. 在 380 nm 的激发波长下, **P1** 表现为单峰发射荧光光谱, 其最大发射峰值为 560 nm, 相比我们之前报道的由 TPE 与苯共聚得到的共轭聚电解质的最大发射峰 (519 nm)^[40] 出现了明显的红移 (约 40 nm), 表明少量具有受体性质的苯并噻二唑的掺杂可以明显改变主链骨架电子的状态,

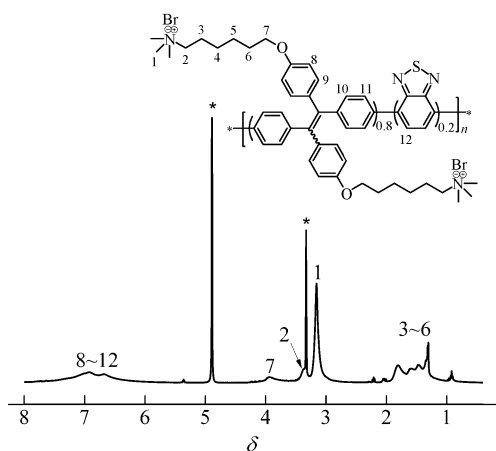


Fig. 2 ^1H -NMR spectrum of **P1** in CD_3OD (The solvent is marked with asterisks.)

从而调控共轭聚电解质的发光波长与颜色. 另外, TPE 在溶液中是典型的 AIE 化合物, 而其与苯并噻二唑共聚后是否具有 AIE (E) 的性质, 带着这个问题, 我们在 **P1** 的水溶液中加入不良溶剂四氢呋喃 (THF), 发现其荧光发射强度迅速增加, 如图 4 所示, 当 THF 含量为 99.9% 时, **P1** 在不良溶剂中发生聚集后其最大发射波长红移至 590 nm, 波长红移近 30 nm, 且荧光发射强度增强近 7 倍. **P1** 的水溶液在 365 nm 波长的紫外灯照射下发出土黄色的荧光, 而在 THF 含量为 99.9% 时则发出橙黄色的荧光, 如图 4 中的插图照片所示, 此发光颜色与 **P1** 在固态时的发光颜色相似. 此结果表明 **P1** 的发光性质受其聚集态的影响较大, 即可以通过调节聚集态结构调控其发光性质, 为检测带有负电荷的生物大分子提供可能. 对于带有电荷的共轭聚电解质的发光, 溶液中的离子强度会影响聚合物链的伸展状态, 从而影响到其发光性质. 我们测试了不同离子浓度的磷酸盐缓冲液 (PBS, 即 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 的混合液) 对 **P1** 发光性质的影响, 如图 5 所示. **P1** 在 2 mmol/L 的 PBS 溶液发生了荧光发射峰的红移 (约 10 nm), 且发射强度略有增强; 随着 PBS 溶液浓度的继续增加, 最大荧光发射峰值不再变化, 其发射强度也基本保持稳定. 这可能是因为离子的存在表现出了一定的盐效应, 促使 **P1** 的主链由自由伸展状态向蜷曲状态转变; 而盐浓度的大小对荧光最大发射峰值及强度的影响不大.

2.3 肝素的双通道检测

肝素中含有大量的负电荷, 是已知生物分子中含有负电荷最多的物质^[41], 在药理学及临床

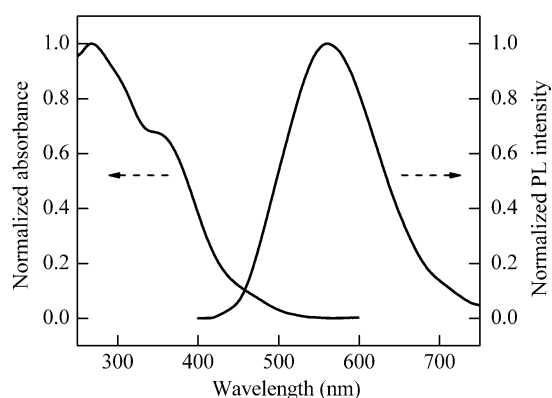


Fig. 3 Normalized UV-Vis absorption and PL intensity spectra of **P1** in water at $[\mathbf{P1}] = 10.0 \mu\text{mol/L}$ (excitation at 380 nm)

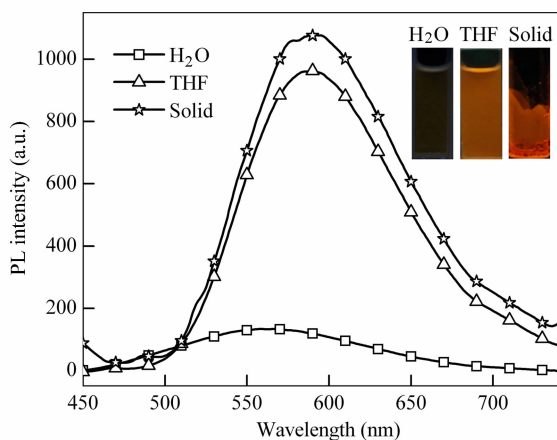


Fig. 4 PL spectra of **P1** in different solvents or in solid
The inset photographs of its solution or in solid were taken under illumination with a UV lamp. $[\mathbf{P1}] = 3.0 \mu\text{mol/L}$; Excitation wavelength for PL: 380 nm.

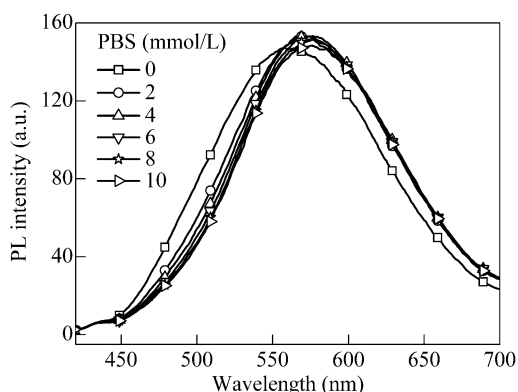


Fig. 5 PL spectra of **P1** in PBS of different concentrations
 $[\mathbf{P1}] = 10 \mu\text{mol/L}$; Excitation wavelength: 380 nm

改变 **P1** 的聚集态结构而引起其光谱性质的变化. 由此, 我们使用 **P1** 的水溶液对肝素的响应进行了滴定实验, 如图 6(a) 所示. 随着肝素的不断加入, **P1** 的荧光发射强度不断增强, 且最大荧光发射峰值逐渐红移, 当正负电荷饱和时荧光发射强度达到最大值, 且最大发射峰值也不再变化. 在无肝素存在下, 紫外灯照射下 **P1** 溶液的颜色为土黄色, 如图 6(a) 中的内插图照片所示, 当肝素加入到 **P1** 溶液后达到饱和时溶液的颜色为橙黄色, 可在裸眼状态下观察到溶液颜色的变化. 为了更好地研究荧光强度与肝素浓度之间的定量关系, 定义 $\varphi = (I - I_0)/I_0$, 其中, I 为最大荧光发射强度值, I_0 为未滴加肝素时 **P1** 水溶液最大荧光发射强度值. 通过 φ 对肝素浓度作图, 如图 6(b) 所示, 在肝素浓度达到 $1.2 \mu\text{mol/L}$ 时达到饱和. 以肝素中的二糖的结构单元计算浓度, 每个结构单元上有 4 个负电荷, 而 **P1** 中的每个结构单元中有 1.6 个正电荷, 当肝素浓度为 $1.2 \mu\text{mol/L}$ 时正好与 $3 \mu\text{mol/L}$ 的 **P1** 中的电荷量相等, 此时达到正负电荷饱和, 荧光强度不再增强. 由图 6(b) 可见, 在电荷达到饱和前 φ 值与肝素浓度成良好的线性关系, 斜率为 $0.0022 \text{ L}/\mu\text{mol}$, 线性回归相关因子为 0.9999. 除此之外, 随着肝素浓度的增加, 最大荧光发射波长 (λ_{max}) 发生红移, 且红移的程度 (从 562 nm 移到 585 nm) 与肝素浓度增加具有同步关系, 当正负电荷达到饱和时不再红移. 因此, 我们对最大发射波长对肝素浓度作图, 发现最大发射波长与肝素浓度也具有很好的线性关系, 其斜率为 $19.94 \text{ nm} \cdot \text{L}/\mu\text{mol}$, 线性回归相关因子为 0.9998. 该结果表明 **P1** 作为肝素检测的荧光探针, 具有双通道优势. 具有双通道功能的荧光探针可以消除非特异性相互作用带来的干扰, 提高检测的准确度^[42-44]. 本研究可以通过 λ_{max} 和 φ 2 个参数的定量变化进行肝素的双通道检测, 提高肝素浓度检测的准确度. 在优化条件下, 以不同浓度的 **P1** 作为荧光探针, 可检测的肝素浓度范围为 $0.1 \sim 45 \mu\text{mol/L}$.

2.4 聚集荧光增强与最大波长红移机理探讨

AIE 现象产生的机理, 众多研究组通过实验分析和理论计算, 提出了多种可能的机理, 其中包括分子内旋转受限、分子内共平面、抑制光化学或光物理过程、非紧密堆积、形成 J-聚集体以及形成特殊激基缔合物等^[35, 36, 45]. 在我们之前的研究

医学中有着广泛的应用. **P1** 侧链上带有丰富的正电荷, 可以和带有负电荷的肝素相互作用, 从而

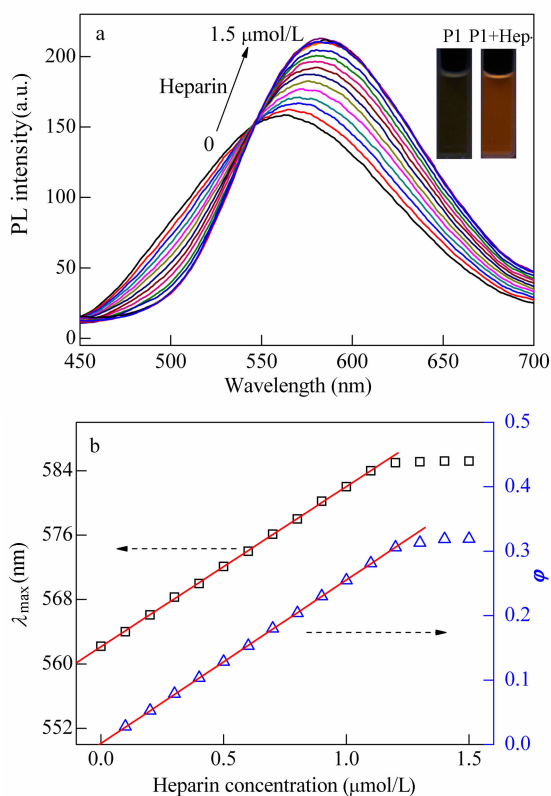


Fig. 6 (a) PL spectra of **P1** upon addition of heparin at $[\mathbf{P1}] = 3.0 \mu\text{mol/L}$ and (b) PL maximum emission length (λ_{max}) and ϕ as a function of $[\text{heparin}]$ and its linear trendline at $[\mathbf{P1}] = 3.0 \mu\text{mol/L}$

中发现^[40], 若 TPE 基团与苯共聚后得到的阳离子型共轭聚电解质具有集诱导荧光增强性质, 当其与肝素作用时荧光发射强度增加, 但最大发射峰值保持不变, 荧光增强主要来源于 TPE 中侧链苯环的自由旋转受限. 而在本研究中我们设计的水溶性共轭聚电解质 **P1**, 既含有 TPE 基团, 又含有 BT 基团. 当 **P1** 与肝素作用时, TPE 链段部分会由于与肝素的静电作用而限制侧链中苯环的自由旋转, 降低了激发态能量的非辐射损失, 从而增强 TPE 链段的荧光量子效率; 不过, 肝素与 **P1** 的静电相互作用会拉近给体 (TPE 链段) 与受体 (BT 链段) 之间的距离, 导致荧光共振能量转移的发生, 从而降低 TPE 链段的荧光发射, 增强 BT 链段的荧光发射. 在 **P1** 的溶液中加入肝素后, 上述的 2 个过程同时发生, 从而导致了最大发射强度的增加以及最大发射波长的红移. 而共轭结构单元间的 π - π 堆积也可以发生波长红移^[46], 为了排除此种因素的影响, 用紫外吸收光谱对肝素的滴定过程进行了跟踪, 其结果如图 7 所示, 即使加入过量的肝素, 其紫外吸收光谱也无明显

变化, 表明 **P1** 与肝素作用后没有引起共轭主链之间的 π - π 堆积, 其最大发射波长的红移是由不同链段发射强度 (TPE 链段和 BT 链段) 的改变而引起. 肝素在水溶液中存在负电荷间排斥作用, 其倾向于以自由伸展状态存在. 当我们使用激光光散射仪测定其在水溶液中的存在状态时, 没有检测到有效的光散射信号. **P1** 中同样存在电荷间的相互排斥作用, 在水溶液中也未检测到有效的激光光散射信号. 这表明 **P1** 与肝素大分子发生作用前, 没有聚集体的形成. 当在 **P1** 的溶液中加入过量的肝素使其电荷达到饱和状态时, 可以检测到很强的激光散射信号, 如图 8 所示, 由分析数据得出其聚集体的平均直径为 76.2 nm. 该结果表明 **P1** 与肝素通过静电相互作用可以形成一定的聚集体, 正负电荷间的引力限制了 **P1** 中侧链苯环的自由旋转, 从而导致 TPE 链段的荧光发射增强; 另一方面, 由于肝素的存在, 会拉近共轭聚电解质主链之间的距离, 从而引起能量从 TPE 链段单元 (给体) 向 BT 链段单元 (受体) 的无损耗转移, 增强 BT 链段的荧光发射强度. 上述两部分的协同贡献导致了 **P1** 与肝素作用后其溶液的荧光发射光谱既有发射波长红移又有荧光强度增强现象, 具有双通道的检测功能.

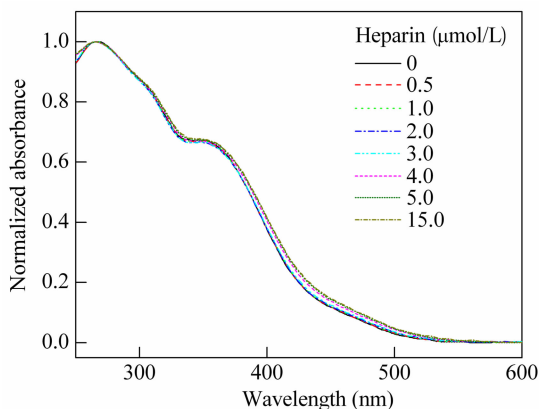


Fig. 7 Normalized UV-Vis absorption spectra of **P1** upon addition of heparin in water at $[\mathbf{P1}] = 10.0 \mu\text{mol/L}$

3 结论

本文通过对 TPE 单体的设计与合成, 采用 Suzuki 偶联反应制备了含有 TPE 基团和 BT 基团的水溶性阳离子型共轭聚电解质 **P1**, 其化学结构通过核磁共振氢谱进行了确定, 2 种结构单元在 **P1** 中的比例约为 TPE: BT = 0.8:0.2, 与投料比基本一致. 通过在 **P1** 的水溶液中加入沉淀剂

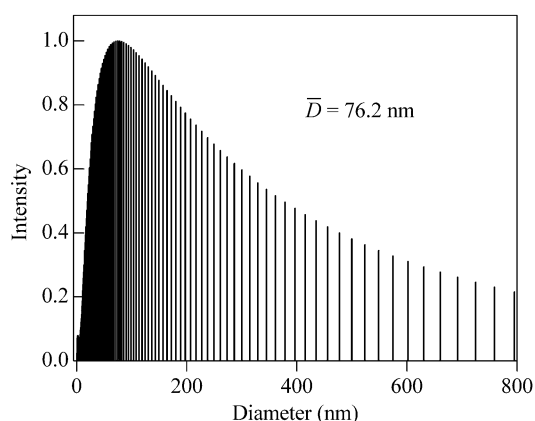


Fig. 8 Effective diameters (EDs) determined by laser light scattering for mixture of **P1** (3.0 $\mu\text{mol/L}$) and heparin (1.5 $\mu\text{mol/L}$)

THF, 促使其发生聚集, 聚集后的荧光强度急剧增加并伴随发射波长的红移, 其溶液在紫外光照下可以观察到明显的颜色变化, 由土黄色 (无聚集态) 转变为橙黄色 (聚集态), 该结果表明 **P1** 发生聚集后可输出双通道信号, 是潜在的荧光检测双通道探针材料. 由此, 我们使用 **P1** 对生物大分子肝素进行了检测, 研究结果表明, 随着肝素浓度的增加, **P1** 的荧光发射强度逐渐增强, 且荧

光强度的增加与肝素浓度具有良好的线性关系. 此外, 最大荧光发射峰值随着肝素浓度的增加线性的发生红移, 其红移波长与肝素浓度也具有很好的线性关系. 当 **P1** 中的正电荷量与肝素中的负电荷量达到饱和时, 荧光强度不再增加, 发射波长也不再变化. 该结果表明 **P1** 能够实现对肝素的双通道检测. 通过紫外吸收光谱对肝素滴定实验的跟踪, 表明 **P1** 与肝素作用时无共轭主链间的 π - π 堆积. 动态激光光散射实验结果表明 **P1** 与肝素通过静电相互作用可以形成一定的聚集体, 从而限制 **P1** 中侧链上苯环的自由旋转, 降低非辐射能量的损失, 增加发光量子效率; 另一方面, **P1** 与肝素形成一定的聚集体后会拉近共轭聚电解质主链之间的距离, 从而发生激发态能量从 TPE 链段无损转移到 BT 链段, 导致 BT 链段的荧光发射强度的增强, 且伴随发射波长的红移. 2 种光物理化学过程的同时存在导致了 **P1** 对肝素具有双通道检测的功能. 该研究结果为设计具有双通道检测功能的荧光传感材料提供了一种新思路, 也进一步拓宽了聚集荧光增强材料的研究领域.

REFERENCES

- 1 Thomas S W, Joly G D, Swager T M. *Chem Rev*, 2007, 107 (4): 1339 ~ 1386
- 2 Pu K Y, Shi J B, Wang L, Cai L, Wang G, Liu B. *Macromolecules*, 2010, 43 (23): 9690 ~ 9697
- 3 Shi J B, Cai L, Pu K Y, Liu B. *Chem-Asian J*, 2010, 5 (2): 301 ~ 308
- 4 Liu X, Fan Q, Huang W. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26 (5): 2154 ~ 2164
- 5 Lee K, Povlich L K, Kim J. *Analyst*, 2010, 135 (9): 2179 ~ 2189
- 6 Feng F, Liu L, Yang Q, Wang S. *Macromol Rapid Commun*, 2010, 31 (16): 1405 ~ 1421
- 7 Duan X, Liu L, Feng F, Wang S. *Acc Chem Res*, 2010, 43 (2): 260 ~ 270
- 8 Li K, Liu B. *Polym Chem*, 2010, 1 (3): 252 ~ 259
- 9 Feng X, Liu L, Wang S, Zhu D. *Chem Soc Rev*, 2010, 39 (7): 2411 ~ 2419
- 10 Wang Shu (王树). *Polymer Bulletin (高分子通报)*, 2011, (2): 1 ~ 11
- 11 Liu Kuan (刘宽), Li Yang (李扬), Yang Mujie (杨慕杰). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2010, (7): 942 ~ 946
- 12 Boudreault P L T, Najari A, Leclerc M. *Chem Mater*, 2011, 23 (3): 456 ~ 469
- 13 Wang Lingyun (汪凌云), Cao Derong (曹德榕). *Progress in Chemistry (化学进展)*, 2010, 22 (5): 905 ~ 915
- 14 Huang Yanqin (黄艳琴), Fan Quli (范曲立), Huang Wei (黄维). *Progress in Chemistry (化学进展)*, 2008, 20 (4): 574 ~ 585
- 15 Zhi Junge (支俊格), Xu Xiuling (徐秀玲), Shen Jinbo (申进波), Zhao Wei (赵玮), Tong Bin (佟斌), Dong Yuping (董宇平). *Progress in Chemistry (化学进展)*, 2009, 21 (4): 739 ~ 746
- 16 Li J, Meng J, Huang X B, Cheng Y X, Zhu C J. *Polymer*, 2010, 51 (15): 3425 ~ 3430
- 17 Zhou X H, Yan J C, Pei J. *Macromolecules*, 2004, 37 (19): 7078 ~ 7080
- 18 Miyata M, Chujo Y. *Polym J*, 2002, 34 (12): 967 ~ 969
- 19 Xing C, Yu M, Wang S, Shi Z, Li Y, Zhu D B. *Macromol Rapid Commun*, 2007, 28: 241 ~ 245
- 20 He F, Tang Y, Yu M, Wang S, Li Y, Zhu D. *Adv Funct Mater*, 2006, 16: 91 ~ 94
- 21 Han, F L, Lu Y, Zhang Q, Sun J F, Zeng X S, Li C X. *J Mater Chem*, 2012, 22 (9): 4106 ~ 4112

- 22 An L L, Wang Shu, Zhu D B. *Chem-Asian J*, 2008, 3(8-9): 1601 ~ 1606
- 23 Pu K Y, Liu B. *Adv Funct Mater*, 2009, 19: 277 ~ 284
- 24 Whitelock J M, Iozzo R V. *Chem Rev*, 2005, 105(7): 2745 ~ 2764
- 25 Bai S H, Ahsan F. *J Pharm Sci Us*, 2010, 99(11): 4554 ~ 4564
- 26 Wallis D E, Lewis B E, Messmore H, Wehrmacher W H. *Clin Appl Thromb Hemost*, 1998, 4: 160 ~ 163
- 27 Girolami B, Girolami A. *Semin Thromb Hemostasis*, 2006, 32(3): 803 ~ 809
- 28 Murray D J, Brosnahan W J, Pennell B, Kapalansk D, Weiler J M, Olson J. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1997, 11: 24 ~ 28
- 29 Hansen R, Koster A, Kukucka M, Mertzluft F, Kuppe H. *Anesth Analg*, 2000, 91(3): 533 ~ 538
- 30 Cai L, Zhan R, Pu KY, Qi X, Zhang H, Huang W, Liu B. *Anal Chem*, 2011, 83(20): 7849 ~ 7855
- 31 Pu K Y, Zhan R, Liang J, Liu B. *Sci China-Chem*, 2011, 54: 567 ~ 574
- 32 Shi J B, Pu K Y, Zhan R, Liu B. *Macromol Chem Phys*, 2009, 210: 1195 ~ 1200
- 33 Pu KY, Liu B. *Macromolecules*, 2008, 41(18): 6636 ~ 6640
- 34 Luo J D, Xie Z L, Lam J W Y, Cheng L, Chen H Y, Qiu C F, Kwok H S, Zhan, X W, Liu Y Q, Zhu D B, Tang B Z. *Chem Commun*, 2001, (18): 1740 ~ 1741
- 35 Hong Y, Lam J W Y, Tang B Z. *Chem Soc Rev*, 2011, 40, (11): 5361 ~ 5388
- 36 Hong Y N, Lam J W Y, Tang B Z. *Chem Commun*, 2009, (29): 4332 ~ 4353
- 37 Zhao Z J, Deng C M, Chen S M, Lam J W Y, Qin W, Lu P, Wang Z M, Kwok H S, Ma Y G, Qiu H Y, Tang B Z. *Chem Commun*, 2011, 47(31): 8847 ~ 8849
- 38 Liu Y, Deng C M, Tang L, Qin A J, Hu R R, Sun J Z, Tang B Z. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(4): 660 ~ 663
- 39 Jin Jiake(金佳科), Chen Xiujuan(陈秀娟), Liu Yi(刘一), Qin Anjun(秦安军), Sun Jingzhi(孙景志), Tang Benzong(唐本忠). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2011, (9): 1079 ~ 1085
- 40 Wu Yanmei(吴燕梅), Shi Jianbing(石建兵), Tong Bin(佟斌), Zhi Junge(支俊格), Dong Yuping(董宇平). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2012, (4): 453 ~ 461
- 41 Cox M M, Nelson D L. *Lehninger, Principles of Biochemistry*, 4st ed. New York: Freeman and Company, 2005. 254
- 42 Ma T H, Dong M, Dong Y M, Wang Y W, Peng Y. *Chem-Eur J*, 2010, 16: 10313 ~ 10318
- 43 Kim S H, Choi H S, Kim J, Lee S J, Quang D T, Kim J S. *Org Lett*, 2009, 12(3): 560 ~ 563
- 44 Xu Z, Singh N J, Lim J, Pan J, Kim H N, Park S, Kim K S, Yoon J. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(42): 15528 ~ 15533
- 45 Zhang Shuang(张双), Qin Anjun(秦安军), Sun Jingzhi(孙景志), Tang Benzong(唐本忠). *Progress in Chemistry* (化学进展), 2011, 23(4): 623 ~ 636
- 46 An B K, Kwon S K, Jung S D, Park S Y. *J Am Chem Soc*, 2002, 124(48): 14410 ~ 14415

A WATER-SOLUBLE DUAL-CHANNEL FLUORESCENCE-ENHANCED BIOSENSOR FOR HEPARIN BASED ON A CATIONIC CONJUGATED POLYELECTROLYTE CONTAINING TETRAPHENYLETHENE AND 2,1,3-BENZOTHIADIAZOLE

Yan-mei Wu¹, Jian-bing Shi¹, Bin Tong¹, Jun-ge Zhi², Yu-ping Dong¹

(¹ School of Materials Science and Engineering, ² School of Chemistry, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081)

Abstract A conjugated polymer (**P0**) containing tetraphenylethene (TPE) group and benzothiadiazole (BT) group has been designed and synthesized by Suzuki coupling reaction of 1,2-di[4-(6-bromohexyloxy)phenyl]-1,2-di(4-bromophenyl)ethene (**M1**), 1,2-di[4-(6-bromohexyloxy)phenyl]-1,2-di(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)ethylene (**M2**) and 4,7-dibromo-2,1,3-benzothiadiazole (**M3**). The ratio of TPE unit to BT unit at 0.803:0.197 was determined by ¹H-NMR spectrum. A water-soluble cationic conjugated polyelectrolyte (**P1**) is obtained by quaternization **P0** with trimethylamine, which is completely soluble in water and insoluble in common organic solvents such as THF and acetone. When **P1** is aggregated by adding a poor solvent such as THF into **P1** aqueous solution, the fluorescence intensity and color of **P1** change drastically. The intensity increases up to seven times and the maximum emission peak is red-shifted up to 30 nm. The color is changing from khaki (no aggregation) to orange (aggregation) under ultraviolet irradiation. Therefore, dual-channel fluorescence response as the unique properties of **P1** was applied to detect heparin, a highly sulfated glycosaminoglycan with the highest negative charge density among the known biological molecules. The fluorescence intensity gradually increased upon addition of heparin into **P1** aqueous solution with a linear response to concentration of heparin, and the correlation coefficient was up to 0.9999. In addition, a linear red shift of the maximum emission peak was observed as the concentration of heparin increased with a correlation coefficient up to 0.9998. These results indicate that **P1** is a potential material for developing dual-channel fluorescence probe for heparin quantification. The UV spectra of **P1**/heparin complexing titration don't show any change. This indicates that there is no inter-chains or intra-chains π - π stacking of **P1**. DLS result indicates some aggregates can be formed through electrostatic interaction between **P1** and heparin, which can reduce the radiative decay when the intramolecular rotation of phenyl group on the side chains is restricted and the fluorescent emission can correspondingly be enhanced. Moreover, due to existence of BT, a typical fluorescence acceptor in fluorescence resonance energy transfer, the fluorescence of TPE segments can effectively be transferred to BT segments when the aggregates are formed by electrostatic interaction between **P1** and heparin, which leads to red-shifts of the maximum emission wavelength. Based on these different responses to electrostatic interaction between **P1** and heparin, dual-channel signals can be obtained as the above discussion. This study thus provides a new concept for designing dual-channel fluorescence sensing material.

Keywords Tetraphenylethene (TPE), 2,1,3-Benzothiadiazole, Heparin, Conjugated polyelectrolyte, Fluorescence resonance energy transfer (FRET)