

水溶性聚噻吩衍生物的合成、 表征及细胞成像

王凤燕, 晏妮, 魏俊基, 夏慧芸, 宋莉芳,
宋家乐, 高莉宁, 颜录科

(长安大学材料科学与工程学院, 西安 710064)

摘要 采用 FeCl_3 氧化聚合制备了一种新型的水溶性聚噻吩衍生物: N,N,N -三甲基-2-(2-[2-(3-噻吩)乙氧基]乙氧基)乙氧基)乙铵溴化物与(4-[2-(2-[2-(2-(3-噻吩)乙氧基]乙氧基)乙氧基)乙基]氨基甲酰基)苯基)硼酸的无规共聚物(简称 PT-2). 在水溶液中对紫外/可见吸收光谱以及荧光发射光谱进行了表征, 其最大吸收波长为 419 nm, 最大发射波长为 579 nm, 摩尔吸光系数为 $4.6 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 荧光量子产率为 12%. 动态光散射实验表明其在水溶液中所形成的聚集体平均粒径为 234 nm. PT-2 在 100 W 汞灯照射下表现出较好的光稳定性. 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT) 实验证明, 其对 A549 细胞的毒性较低, 细胞成像及共定位分析结果表明 PT-2 能够富集在溶酶体中, 因此, 在溶酶体特异性的细胞成像方面具有潜在的应用价值.

关键词 水溶性聚噻吩衍生物; 溶酶体特异性; 细胞成像

中图分类号 O633.3

文献标志码 A

共轭聚合物 (CPs) 是一类由大量的发光单元通过共轭组成的具有特殊光电性质的高分子材料. 离域 π 电子共轭结构使其具有光捕获能力强及信号放大能力强的特点, 在有机太阳能电池^[1-4]、发光二极管^[5-7]和有机场效应晶体管^[8-10]等光电器件方面具有非常重要的使用价值. 通过在其侧链上修饰离子型基团(羧基、季胺基、磺酸基等)可以得到水溶性共轭聚合物 (WSCP)^[11-14]. 由于 WSCP 具有细胞毒性低、荧光强度高、光稳定性好和能带可调的特性, 已经被广泛应用于细胞成像研究^[15-17]. 其中, 水溶性聚噻吩衍生物 (WSPT) 细胞毒性较低, 容易修饰, 在活细胞成像领域具有极其重要的应用价值^[18-20].

近年来, 人们发现苯硼酸能够可逆地与多糖中的 1,2-邻二醇结合形成五元环结构, 或者与 1,3-二醇结合形成六元环结构^[21]. 而细胞表面有许多多糖结构, 具有九碳骨架的唾液酸通常存在于这些多糖结构的末端^[22,23]. Kataoka 等^[21]发现苯硼酸结构在生理 pH 下可选择性地与细胞表面的唾液酸结合. 利用该性质可以实现细胞膜表面唾液酸的检测以及细胞膜的靶向成像^[24,25]. Duan 等^[26]发现表面进行苯硼酸修饰的量子点能够靶向在细胞表面, 然后被快速内吞进入细胞质体中. 即量子点表面的苯硼酸结构可以介导细胞对量子点的内吞. 本文采用 FeCl_3 氧化聚合的方式合成了 1 种末端带有苯硼酸基团的水溶性聚噻吩衍生物 N,N,N -三甲基-2-(2-[2-(2-(3-噻吩)乙氧基]乙氧基)乙氧基)乙铵溴化物与(4-[2-(2-[2-(2-(3-噻吩)乙氧基]乙氧基)乙氧基)乙基]氨基甲酰基)苯基)硼酸的无规共聚物(简称 PT-2). PT-2 具有优良的光学性能, 能够形成聚集体分散在水溶液中, 并表现出较好的光稳定性. 与 A549 细胞共培养后, 其毒性较低, 有望用于溶酶体特异性的细胞成像研究.

收稿日期: 2018-03-14. 网络出版日期: 2018-10-09.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 21704005, 51502021)、陕西省自然科学基金基础研究计划项目(批准号: 2017JQ2003, 2017JQ2023, 2017JQ2025)和中国博士后科学基金(批准号: 2016M602745)资助.

联系人简介: 王凤燕, 女, 博士, 讲师, 主要从事共轭聚合物的设计、合成及生物医药应用研究. E-mail: wfy0914@chd.edu.cn

1 实验部分

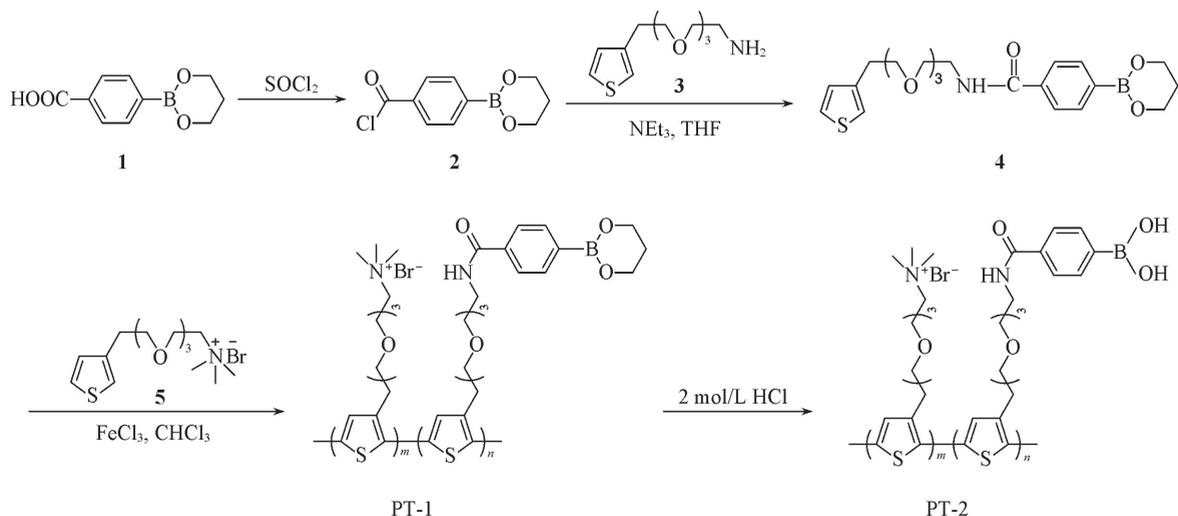
1.1 试剂与仪器

所用化学药品购自 Arcos, Alfa Aesar 或 Sigma-Aldrich 公司, 溶剂均为分析纯, 购自国药集团化学试剂北京有限公司. 化合物 **3** 和 **5** 参照文献[27,28]方法合成. 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT) 购自北京欣经科生物技术有限公司. 杜尔贝科改良的伊格尔培养基(DMEM) 购自 HyClone/ThermoFisher. 胎牛血清(FBS) 购自杭州四季青生物有限公司. Hank's 平衡盐溶液和含 2.5 mg/mL 的胰蛋白酶消化液购自 GIBCO 公司. 实验用水为经 Millipore 过滤系统处理过的二次蒸馏水. 人肺癌 A549 细胞株购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心. 细胞培养相关的耗材购自 Nunc 公司. 细胞核染料 Hoechst 33342 和蓝色的溶酶体染料 DND-22 购自 Invitrogen 公司.

荧光量子产率(QY)以荧光素为基准(QY = 0.79)进行测定. 核磁共振氢谱(^1H NMR)和碳谱(^{13}C NMR)由 Bruker Avance 400 MHz 核磁共振谱仪测定. 质谱(HRMS)利用 LCMS-2010 型液相色谱-质谱联用仪测定. 紫外/可见吸收光谱由 JASCOV-550 型紫外/可见(UV-Vis)分光光度计测定. 荧光发射光谱由装有氙灯光源的 Hitachi F-4500 型荧光分光光度计测定. 原位细胞存活率利用美国 BIO-TEK Synergy HT 型酶标仪测定. 光稳定性利用配备100 W汞灯的 Olympus IX71 型荧光显微镜测定. 粒径采用英国马尔文 Zetasizer Nano 系列粒度分析仪(Nano-ZS/ZEN-3600)测量. 细胞成像利用奥林巴斯 FV1000-IX81 型激光共聚焦扫描显微镜完成.

1.2 实验过程

水溶性聚噻吩衍生物 PT-2 的合成路线如 Scheme 1 所示.



Scheme 1 Synthetic routes of PT-2

1.2.1 化合物 **4** 的合成 将化合物 **1** (0.427 mmol, 88 mg) 和 4 mL 二氯亚砷加入单口瓶中, 加入 0.1 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF), 加热至 88 °C 回流过夜. 然后, 蒸馏除去二氯亚砷, 并用隔膜泵减压蒸馏直至除尽, 得到化合物 **2**. 将化合物 **3** (0.143 mmol, 37 mg) 溶于 2 mL 无水四氢呋喃(THF)溶液, 并向其中加入无水三乙胺(0.497 mmol, 69 μL), 在冰浴条件下, 将化合物 **2** 用 1 mL 无水 THF 溶解后逐滴加至上述含化合物 **3** 的溶液中, 将反应混合液逐渐恢复至室温, 搅拌反应 24 h. 加水淬灭反应, 减压蒸馏除去溶剂, 然后用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ 萃取 2 次. 合并萃取后的 CH_2Cl_2 相, 减压浓缩得到粗产品. 利用硅胶柱层析色谱对粗产品进行分离纯化, 洗脱剂为 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (体积比为 22:1), 纯化后得到 31 mg 化合物 **4**, 产率为 48%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 7.76 (d, 2H), 7.74 (d, 2H), 7.22 (dd, 1H), 7.00 (d, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.16 (t, 4H), 3.55~3.74 (m, 14H), 2.88 (t, 2H), 2.06 (m, 2H). ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 167.88, 139.32, 136.48, 134.01, 128.69, 126.27, 125.39, 121.36, 71.70, 70.77, 70.52, 70.44, 70.06, 62.24, 39.96, 30.80, 27.58. HRMS (ESI), m/z

$[M+Na]^+$ (计算值): 470.1781(470.1783).

1.2.2 PT-2的合成 在室温下,将单体**4**(0.064 mmol, 28.7 mg)和化合物**5**(0.150 mmol, 57.2 mg)溶于10 mL无水氯仿中,不断搅拌并向反应体系中通氮气15 min.然后加入无水三氯化铁(0.963 mmol, 156 mg),继续通氮气15 min,将体系密封并避光反应48 h.反应完毕后加入1 mL甲醇终止反应,除去上层清液后将体系中的固体用甲醇溶解,得到聚合物的甲醇溶液,将该溶液逐滴滴加至NaHCO₃饱和溶液中以除去体系中的Fe³⁺.离心,收集上层清液,减压蒸馏浓缩得到橙红色的粗产品.向粗产品中加入10 mL水使其溶解,并转移至透析袋(截留分子量3500)中透析,每隔2 h换1次水,共换8次.透析后的溶液经过冷冻干燥获得30.1 mg红色黏稠状固体,即*N,N,N*-三甲基-2-(2-{2-[2-(3-噻吩)乙氧基]乙氧基}乙氧基)乙铵溴化物与(4-{[2-(2-{2-[2-(3-噻吩)乙氧基]乙氧基}乙氧基)乙基]氨基甲酰基}苯基)硼酸-1,3-丙二醇环酯的无规共聚物,简称PT-1,产率为35%.

将聚合物PT-1(0.016 mmol, 6.4 mg)溶于2 mL 2 mol/L的盐酸中,搅拌反应2 h,旋转蒸发除去溶剂后加入10 mL水使其溶解,用截留分子量为3500的透析袋透析(每2 h换1次水,共换8次),将透析后的溶液冷冻干燥得到5.2 mg红色黏稠状固体PT-2,产率为99%. ¹H NMR(400 MHz, CD₃OD), δ : 7.71~7.82 (br, 1.00H), 7.51~7.71 (br, 1.89H), 7.35~7.51 (br, 2.20H), 7.16~7.35 (br, 3.99H), 6.74 (s, 1.01H), 3.81~4.00 (br, 10.06H), 3.72~3.81 (br, 6.99H), 3.38~3.72 (br, 77.64H), 3.03~3.24 (br, 49.68H), 2.61~2.92 (br, 4.32H), 2.10~2.29 (br, 0.64H).

1.2.3 粒径表征 将1 mL 100 μ mol/L PT-2的超纯水溶液加入测粒径专用池中,于25 $^{\circ}$ C平衡2 min后进行测定,平行测定3次取平均值.

1.2.4 光稳定性测定 将10 μ L 500 μ mol/L PT-2滴加到Fisher载玻片上,加盖,将样品用100 W的汞灯经450 nm/70 nm激发滤光片过滤后连续照射,并测定荧光发射强度.

1.2.5 荧光量子产率的测定 PT-2的荧光量子产率(QY)以荧光素为基准(QY_R = 0.79)按照下式计算:

$$QY = QY_R \frac{I}{I_R} \frac{OD_R}{OD} \frac{n^2}{n_R^2} \quad (1)$$

式中: I 表示PT-2的校正荧光发射光谱积分面积; OD 表示PT-2的吸光度(<0.05); n 表示溶液折射率; R 代表基准物质荧光素.

1.2.6 细胞培养和传代 将A549细胞转移至细胞培养皿(60 mm)中,加入3 mL DMEM培养液(含体积分数为10%的FBS),置于恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)中培养. A549细胞贴壁生长,当培养皿底被细胞占据80%左右时,用1 mL 2.5 mg/mL胰蛋白酶液消化3 min.为了终止胰酶的消化作用,可向其中加入2 mL DMEM培养液.然后,轻轻地用移液枪多次吹打消化后的细胞以使其充分分散,将其转入15 mL离心管中,以1000 r/min的转速离心5 min,弃掉上层清液,加入新鲜的DMEM培养基,吹打均匀后以1:3的比例传代,继续培养,备用.

1.2.7 原位细胞存活率计算 将A549细胞消化后传代于96孔板中(1 \times 10⁴个/孔).将其置于恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)中培养24 h.用移液枪移去培养基,并向其中加入100 μ L含有不同浓度的PT-2的DMEM培养基,继续培养24 h.向每个孔中加入10 μ L 5 mg/mL MTT,然后在恒温培养箱中继续培养4 h.用移液枪将培养基移去,向每个孔中加入二甲亚砜(100 μ L)以溶解生成的甲臜.将96孔板放入酶标仪中振荡5 min使甲臜充分溶解,然后测定所生成的紫色甲臜在490 nm处的吸光度值.根据下式计算细胞活力(VR, %):

$$VR = \frac{A}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A 为实验组的吸光度值; A_0 为不做任何处理的对照组的吸光度值.

1.2.8 细胞成像及共定位分析 向底部为玻璃的细胞培养皿中加入8 \times 10⁴个A549细胞,于恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)中培养12 h.然后将培养基换成含20 μ mol/L PT-2的DMEM培养基,继续培养24 h.弃去培养基,将细胞用PBS缓冲溶液(10 mmol/L, pH=7.4)洗涤3次,加入1 mL PBS.

细胞成像: 向培养皿中加入 Hoechst 33342 (细胞核染料, 终浓度 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$), 室温条件下染色 5 min, 用 PBS 洗涤 3 次, 加入 1 mL Hank's 平衡盐溶液, 用激光共聚焦扫描显微镜成像, 聚合物激发波长为 488 nm, 收集波长为 530~630 nm; 核染料激发波长 405 nm, 收集波长为 425~475 nm.

共定位实验: 向培养皿中加入蓝色溶酶体染料 DND-22 (终浓度为 $0.5 \mu\text{mol}/\text{L}$), 在 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养 30 min, 用 PBS 洗涤 3 次, 加入 1 mL Hank's 平衡盐溶液, 用激光共聚焦扫描显微镜成像, 聚合物激发波长为 488 nm, 收集波长为 530~630 nm; 溶酶体染料激发波长为 405 nm, 收集波长为 415~460 nm.

2 结果与讨论

2.1 聚合物 PT-2 的合成

由 Scheme 1 可见, 化合物 1 在二氯亚砷的作用下酰化得到化合物 2. 化合物 3 在碱性条件下与未经分离纯化的化合物 2 反应得到化合物 4, 这两步的总产率为 48%. 在氮气保护下, 化合物 4 和 5 经 FeCl_3 氧化聚合反应得到水溶性聚噻吩衍生物 PT-1, PT-1 在 2 mol/L 盐酸的作用下脱保护, 得到侧链为苯硼酸的聚合物 PT-2, 产率为 35%.

2.2 聚合物 PT-2 的光学性质

PT-2 的侧链以季铵盐为主, 因此 PT-2 在水溶液中具有较好的分散性. 图 1 显示 PT-2 在水溶液中所形成聚集体的平均粒径为 234 nm. 图 2 给出了水溶液中 PT-2 的吸收光谱和荧光发射光谱.

可以看出, 其最大吸收波长是 419 nm, 对应于聚噻吩骨架的 $\pi-\pi^*$ 跃迁, 最大发射波长 579 nm, Stokes 位移 156 nm, 摩尔吸光系数为 $4.6 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$. 以荧光素为基准测得 PT-2 的荧光量子产率为 12%. 用 100 W 的汞灯经 450 nm/70 nm 激发滤光片过滤后连续照射 PT-2 样品 ($500 \mu\text{mol}/\text{L}$, 按重复单元计算) 100 s 后, 其荧光强度只降低 50% (图 3). 表明 PT-2 具有较好的荧光量子产率和光稳定性.

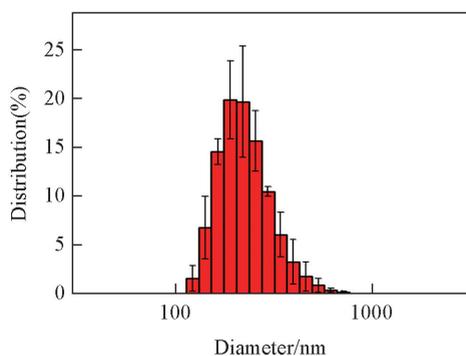


Fig.1 Hydrodynamic diameter distribution of $100 \mu\text{mol}/\text{L}$ PT-2 in aqueous solution

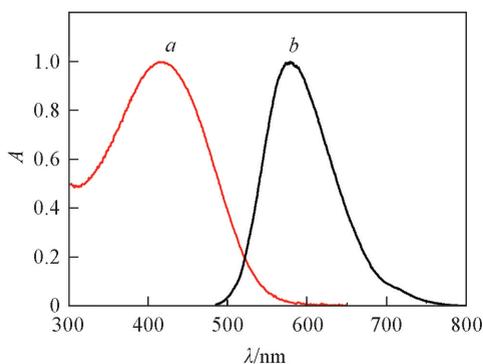


Fig.2 Normalized UV-Vis absorption (a) and fluorescent (b) emission spectra of $40 \mu\text{mol}/\text{L}$ PT-2 in aqueous solution excited at 460 nm

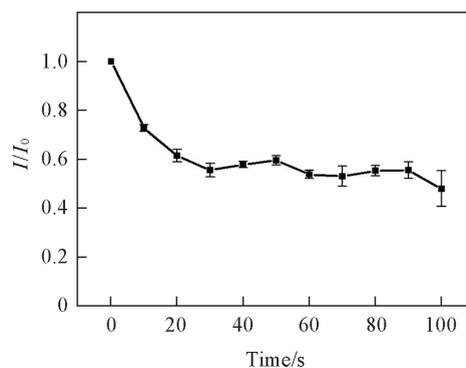


Fig.3 Photostability of $500 \mu\text{mol}/\text{L}$ PT-2 in aqueous solution at 100 W mercury lamp irradiation (450 nm/70 nm excitation filter)

2.3 聚合物 PT-2 的细胞成像

MTT 法是测定细胞存活率的一种标准方法, 其作用机制为活细胞线粒体中含有的琥珀酸脱氢酶能够使 MTT 转化为甲臃 (蓝紫色), 但在死细胞中无此作用. 将 A549 细胞与不同浓度 (1.25, 2.5, 5, 10,

20, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$)的 PT-2 在恒温细胞培养箱中共培养, 然后用 MTT 法测定其毒性, 结果如图 4 所示. 在 PT-2 作用下, A549 细胞的存活率达到 75% 以上, 表明 PT-2 具有较低的细胞毒性. 对 PT-2 进行原位细胞成像和共定位分析. 首先, 将 A549 细胞用含有 20 $\mu\text{mol/L}$ PT-2 (按重复单元计算) 的 DMEM 培养基中培养 24 h, 用 Hoechst 33342 (10 $\mu\text{g/mL}$) 对细胞核进行染色, 对照组不加 PT-2 只用 Hoechst 33342 (10 $\mu\text{g/mL}$) 对细胞核进行染色, 所得荧光图像如图 5 所示. 从图 5 可以看出, PT-2 的荧光与细胞核染料 Hoechst 33342 的荧光不发生重叠.

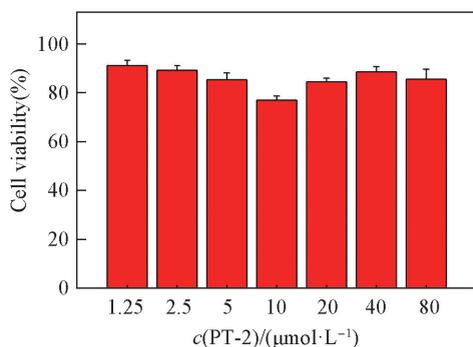


Fig.4 Cell viability data of A549 cells at different concentrations of PT-2

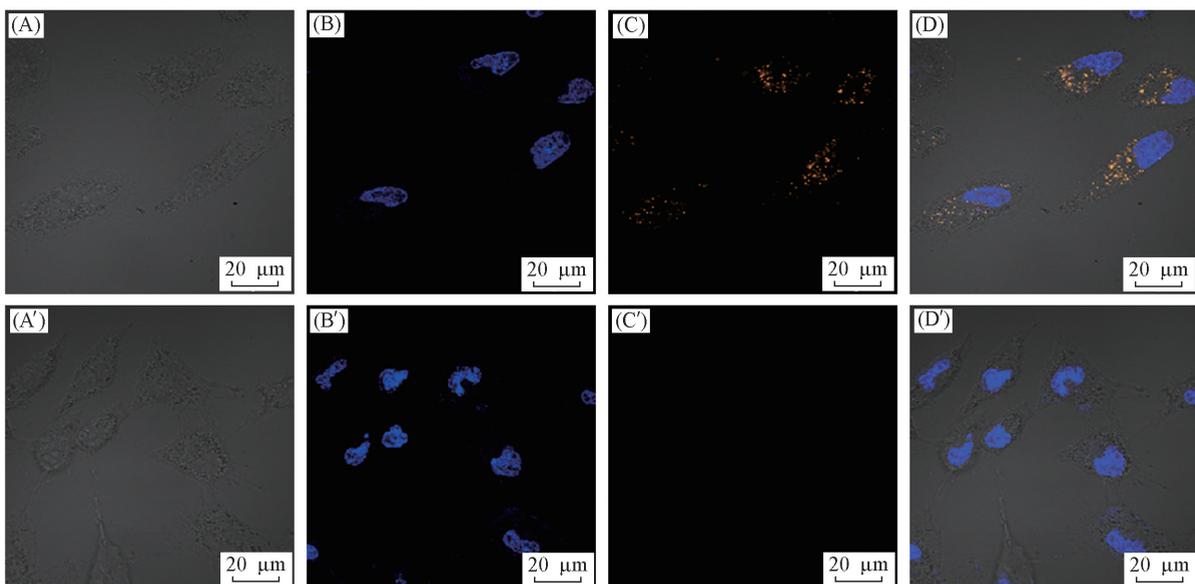


Fig.5 Cellular location of PT-2 after 24 h incubation with A549 cells

(A—D) Experimental group A549 cells were stained with PT-2 and nuclear dye Hoechst 33342; (A'—D') control group A549 cells were stained with Hoechst 33342; (A, A') phase contrast; (B, B') Hoechst channel; (C, C') PT-2 channel; (D, D') merged. PT-2 (20 $\mu\text{mol/L}$ in repeated units; excitation: 488 nm; collection: 530—630 nm; false color: orange), Hoechst 33342 (nuclei stain; 10 $\mu\text{g/mL}$; excitation: 405 nm; collection: 425—475 nm; false color: blue).

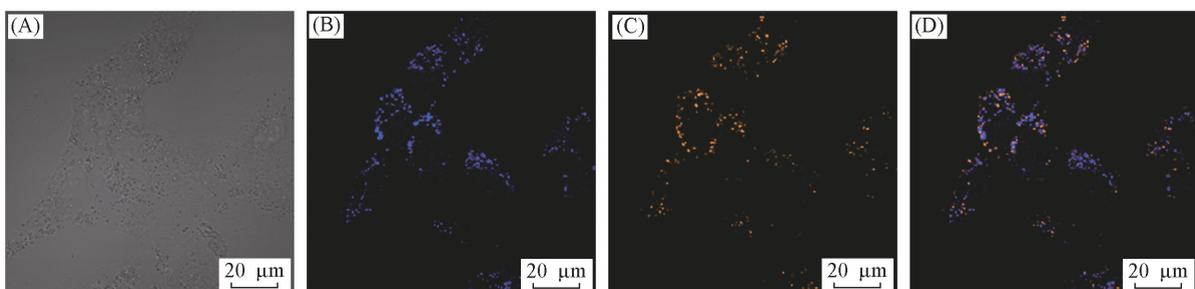


Fig.6 Co-location of PT-2 and Lyso Tracker Blue DND-22 in A549 cells

(A) Phase contrast; (B) DND-22; (C) PT-2; (D) overlapped image of (B) and (C). PT-2 (20 $\mu\text{mol/L}$ in repeated units; excitation: 488 nm; collection: 530—630 nm; false color: orange).

因此, PT-2 不能够进入 A549 细胞的细胞核中, 而是分布在其细胞质中. 为了进一步确定 PT-2 在细胞中的确切位置, 我们用蓝色的溶酶体染料 DND-22 对 PT-2 在 A549 细胞中的具体分布进行了共定位分析, 实验结果如图 6 所示. 可以看出, PT-2 和 DND-22 的荧光图像能够重叠. 进一步对图像的共定位效

果进行统计分析(图7)发现,PT-2和DND-22之间的皮尔森系数为0.68,表明PT-2能够富集在A549细胞的溶酶体中.因此,PT-2有望用于溶酶体特异性的细胞成像.

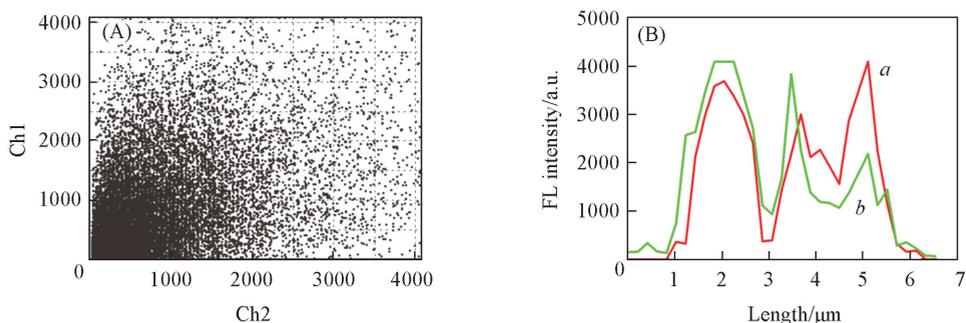


Fig.7 Colocalization image(A) and line series analysis of PT-2(a) and Lyso Tracker Blue DND-22(b)(B)

3 结 论

利用 FeCl_3 氧化聚合的方式制备了新型的水溶性聚噻吩衍生物PT-2.在水溶液中测定了PT-2的紫外/可见吸收光谱和荧光发射光谱,结果表明其最大吸收和发射波长分别为419和579 nm,摩尔吸光系数为 $4.6 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,荧光量子产率为12%.在水溶液中所形成的聚集体平均粒径为234 nm.PT-2的光稳定性较好.对人肺癌(A549)细胞的毒性较低.PT-2主要分布在A549细胞的细胞质内,而且PT-2能够在溶酶体中富集.因此,PT-2在溶酶体特异性的细胞成像方面具有潜在的应用价值.

参 考 文 献

- [1] Zhou H. X., Yang L. Q., You W., *Macromolecules*, **2011**, 45(2), 607—632
- [2] Li W. W., Roelofs W. S., Turbiez M., Wienk M. M., Janssen R. A., *Advanced Materials*, **2014**, 26(20), 3304—3309
- [3] Günes S., Neugebauer H., Sariciftci N. S., *Chemical Reviews*, **2007**, 107(4), 1324—1338
- [4] Qin R. P., Song G. L., Jiang Y. R., Bo Z. S., *Chem. J. Chinese Universities*, **2012**, 33(4), 828—832(秦瑞平, 宋桂林, 蒋玉荣, 薄志山. 高等学校化学学报, **2012**, 33(4), 828—832)
- [5] Burroughes J. H., Bradley D. D. C., Brown A. R., Marks R. N., Mackay K., Friend R. H., Burns P. L., Holmes A. B., *Nature*, **1990**, 347(6293), 539—541
- [6] Alsalhi M. S., Alam J., Dass L. A., Raja M., *International Journal of Molecular Sciences*, **2011**, 12(3), 2036—2054
- [7] Herguth P., Jiang X. Z., And M. S. L., Jen A. K. Y., *Macromolecules*, **2002**, 35(16), 6094—6100
- [8] Lei T., Cao Y., Fan Y. L., Liu C. J., Yuan S. C., Pei J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133(16), 6099—6101
- [9] Lim E., Kim Y. M., Lee J. I., Jung B. J., Cho N. S., Lee J., Do L. M., Shim H. K., *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, **2010**, 44(16), 4709—4721
- [10] Wang C. L., Dong H. L., Hu W. P., Liu Y. Q., Zhu D. B., *Chemical Reviews*, **2012**, 112(4), 2208—2267
- [11] Yu M. H., Tang Y. L., He F., Wang S., Zheng D. G., Li Y. L., Zhu D. B., *Macromolecular Rapid Communications*, **2010**, 27(20), 1739—1745
- [12] Xie B. H., Bagui M., Guo R. Y., Li K., Wang Q., Peng Z. H., *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, **2007**, 45(22), 5123—5135
- [13] Traina C. A., Nd B. R., Bazan G. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133(32), 12600—12607
- [14] Yang X. H., Wang S. F., Wang K. M., Luo X. M., Tan W. H., Cui L., *Chem. J. Chinese Universities*, **2009**, 30(5), 899—902(羊小海, 王胜锋, 王柯敏, 罗晓明, 谭蔚泓, 崔亮. 高等学校化学学报, **2009**, 30(5), 899—902)
- [15] Zhu C. L., Liu L. B., Yang Q., Lv F. T., Wang S., *Chemical Reviews*, **2012**, 112(8), 4687—4735
- [16] Li J., Yuan Y., Zeng G. S., Li X., Yang Z., Li X. Z., Jiang R. C., Hu W. B., Sun P. F., Wang Q., *Polymer Chemistry*, **2016**, 7(45), 6890—6894
- [17] Li S. L., Chen T., Wang Y. X., Liu L. B., Lv F. T., Li Z. L., Huang Y. Y., Schanze K. S., Wang S., *Angewandte Chemie*, **2017**, 56(43), 13455—13458
- [18] Wang B., Zhu C. L., Liu L. B., Lv F. T., Yang Q., Wang S., *Polymer Chemistry*, **2013**, 4(20), 5212—5215
- [19] Sista P., Ghosh K., Martinez J. S., Rocha R. C., *Journal of Nanoscience & Nanotechnology*, **2014**, 14(1), 250—272
- [20] Tang H. W., Xing C. F., Liu L. B., Yang Q., Wang S., *Small*, **2011**, 7(10), 1464—1470

- [21] Otsuka H., Uchimura E., Koshino H., Okano T., Kataoka K., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*(12), 3493—3502
- [22] Chen X., Varki A., *ACS Chemical Biology*, **2010**, *5*(2), 163—176
- [23] Schauer R., *Glycoconjugate Journal*, **2000**, *17*(7—9), 485—499
- [24] Matsumoto A., Sato N., Kataoka K., Miyahara Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*(34), 12022—12023
- [25] Wen Q. S., Zhu C. L., Liu L. B., Yang Q., Wang S., Zhu D. B., *Macromolecular Chemistry & Physics*, **2012**, *213*(23), 2486—2491
- [26] Liu A. P., Peng S., Soo J. C., Kuang M., Chen P., Duan H. W., *Analytical Chemistry*, **2011**, *83*(3), 1124—1130
- [27] Wang F. Y., Meng L., Bing W., Zhang J. Y., Cheng Y. Q., Liu L. B., Lv F. T., Shu W., *Scientific Reports*, **2015**, *5*, 7617
- [28] Wang F. Y., Liu Z., Wang B., Feng L. H., Liu L. B., Lv F. T., Wang Y. L., Wang S., *Angewandte Chemie International Edition*, **2014**, *53*(2), 424—428

Synthesis, Characterization and Cell Imaging of Water Soluble Polythiophene Derivative[†]

WANG Fengyan*, YAN Ni, WEI Junji, XIA Huiyun, SONG Lifang,
SONG Jiale, GAO Lining, YAN Luke

(School of Materials Science & Engineering, Chang'an University, Xi'an 710064, China)

Abstract A new polythiophene derivative, random copolymer of *N,N,N*-trimethyl-2-(2-[2-(thiophen-3-yl)ethoxy]ethoxy)ethoxy)ethanaminium bromide and (4-[2-(2-[2-(thiophen-3-yl)ethoxy]ethoxy)ethoxy)ethyl]carbamoyl)phenyl)boronic acid, abbreviated as PT-2, was synthesized through FeCl₃ oxidative polymerization reaction. Its optical properties and applications in cellular imaging were investigated. The UV-Vis absorption and fluorescence emission spectra were measured in water solution, the absorption maximum is 419 nm, emission maximum is 579 nm, molar absorption coefficient is 4.6×10^3 L/(mol · cm), fluorescence quantum yield is 12%. Dynamic light scattering test showed that the average particle size of its aggregates formed in water was about 234 nm. Under the irradiation of mercury lamp(100 W), PT-2 exhibits a satisfactory photostability. Moreover, after co-culture with human lung cancer(A549) cells for 24 h, PT-2 shows low cytotoxicity and could be enriched in the cytoplasm. It's fluorescence image could superposed well with lysosome-specific dye (Lyso Tracker Blue DND-22). Thus, PT-2 has potential application value in lysosomal-specific cell imaging.

Keywords Water soluble polythiophene derivative; Lysosomal-specific; Cell imaging

(Ed.: D, Z)

[†] Supported by the National Natural Science Foundation of China(Nos.21704005, 51502021), the Natural Science Basic Research Plan in Shaanxi Province of China(Nos.2017JQ2003, 2017JQ2023, 2017JQ2025) and the China Postdoctoral Science Foundation(No.2016M602745).