

Synthesis and Characterization of Novel Reversible Fluorescence Modulation Nanoparticles

Jian Chen, Pei-sheng Zhang, Xian-yong Yu, Xiao-fang Li, Hong-wen Tao, Ping-gui Yi

School of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China

Email: cj0066@gmail.com

Abstract: In this work, the two fluorophores (9, 10-diphenyl anthracene, (DPA) and spiropyran containing methacrylate, (SPMA)) were incorporated into polymeric nanoparticles to constitute novel FRET systems via a one-step miniemulsion polymerization. Spectroscopic characteristics demonstrate that the two fluorophores have been successfully embedded into the nanoparticles. In addition, the UV and visible light can be applied to modulate the fluorescence emission of DPA dye in nanoparticles. Upon UV irradiation, the spiropyran moieties in nanoparticles converted to the open-ring (McH form) structure and upon visible light irradiation they turned back to the close-ring (SP form) structure, as a result the fluorescence of DPA can be reversibly “switched off” and “switched on”. The fluorescence resonance energy transfer (FRET) from the excited DPA dye molecules to the McH form of spiropyran moieties is the driving force behind the fluorescence modulation. The nanoparticles display fairly good fluorescent modulation property upon alternate UV/visible light irradiation. Thus, they have potential applications in biological, optical field and so on.

Keywords: FRET; Spiropyran; Miniemulsion polymerization; Photochromism; Fluorescent modulation

新型荧光可逆调控纳米粒子的制备与表征

陈建, 张培盛, 于贤勇, 李筱芳, 陶洪文, 易平贵*

湖南科技大学化学化工学院 湖南省湘潭市 中国 411201

Email: cj0066@gmail.com

摘 要: 本文根据荧光共振能量转移 (FRET) 原理, 采用一步细乳液聚合方法将两种能级匹配的给体 (9, 10-二苯基蒽 (DPA)) 和受体 (甲基丙烯酸酯化螺吡喃 (SPMA)) 引入单个的聚合物纳米粒子中。对荧光纳米粒子的光谱学研究表明两种生色团已经成功进入纳米粒子中。另外, 紫外光和可见光可用于调控纳米粒子中 DPA 的荧光发射。在紫外光和可见光的照射下, 纳米粒子中的螺吡喃基团在开环结构 (McH 态) 和闭环结构 (SP 态) 之间发生可逆转变, 由于从 DPA 到 McH 态螺吡喃之间可以发生 FRET, 从而可引发 DPA 荧光在不同光照射下发生可逆的“开”和“关”。这种纳米粒子在紫外/可见光的照射下, 显示出良好的荧光可逆调控性能, 因而在生物领域如生物标记成像等具有潜在的应用前景。

关键词: FRET; 螺吡喃; 细乳液聚合; 光致变色; 荧光调控

1 引言

近年来, 基于 FRET 原理的荧光纳米粒子在生物检测、可逆成像、选择性标记, 及分子开关等方面的应用研究引起了科学工作者们的广泛关注^[1-3]。因为它相对于传统的有机染料体系而言在生物标记及传感应用方面具有许多的优点, 如生物相容性、无生物毒性及可应用于水相体系等。在 FRET 体系的研究中, 给体-受体对的选择尤其重要。高效率的 FRET 须使给体发射光谱和受体吸收光谱尽可能重叠。在本研究中, 结合相关文献报道, 受体选择了对光响应速度快的光致变色螺吡喃基团^[4], 这种光致变色基团能够在可见光或紫外光的照射下发生可逆的结构变化从而引发光

谱性质的变化, 这为构建基于能量转移的荧光调控体系提供了很大的可能性。给体则选用与螺吡喃基团开环体之间能级匹配的蓝色荧光染料 DPA, 然后, 结合这两种染料则可以构建荧光调控体系。在本研究中, 我们拟通过细乳液聚合方法^[5]将 DPA 和 SPMA 同时引入聚合物纳米粒子中, 用具有光致异构功能的螺吡喃基团来调控同样位于纳米粒子中的疏水荧光染料 DPA 的荧光发射, 以构建新型荧光可逆调控纳米粒子。

2 实验部分

2.1 主要试剂

十六烷 (HD, 99 %, Aldrich), 过硫酸钾 (KPS, 99 %, Aldrich), 十二烷基硫酸钠 (SDS, 99 %, Aldrich)

资助信息: NSFC 基金资助项目 (51003026, 20772027, 20971041)。

Aldrich), 9,10-二苯基蒽 (DPA, Aladdin), 直接使用。甲基丙烯酸甲酯 (MMA, 99 %, Aldrich) 化学纯, 精制冷藏使用。螺吡喃衍生物 (SPMA), 按文献方法合成, 密封避光使用。所有水均为二次去离子水。

2.2 细乳液聚合制备含 DPA 和 NBD 的荧光纳米粒子

将混合后的单体溶液 (包含 MMA, DPA, SPMA, HD 四种疏水物质) 加到 SDS 的水溶液中, 在常温下搅拌混合 15 分钟后, 放入冰水浴中 (20 °C) 超声 (99 %) 乳化 20 分钟便可得到稳定的细乳液。然后将细乳液转入带冷凝管、磁力搅拌的 50 ml 圆底烧瓶中, 搅拌 30 分钟后升温至 60 °C, 加入用水溶解好的引发剂 KPS 引发聚合, 210 分钟后停止反应, 冷却至室温, 抽滤得到所需的含 DPA/SPMA 纳米粒子分散液。

2.3 表征与分析

样品溶液的吸收光谱采用 SHIMADZU 公司的紫外-可见分光光度 (UV-2501PC 型) 测得。样品的荧光光谱采用 SHIMADZU 公司的荧光光谱仪 (RF5301PC 型) 测定, 激发光和发射光的狭缝选用 2.5 nm, 各样品均稀释至有效的浓度。纳米粒子的大小及粒度分布采用日本 Seiko 公司的 SII400 型原子力显微镜 (AFM) 测定。

3 结果与讨论

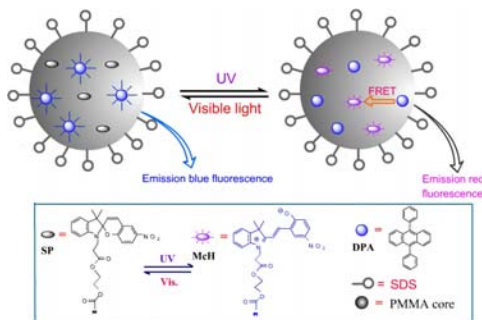


Figure 1. Schematic illustration for reversible photoswitchable fluorescent nanoparticles containing the fluorescent dyes (DPA) and the photochromics (spiropyran)

图 1. DPA/螺吡喃基荧光可控纳米粒子在紫外或可见光的照射下荧光可逆调控示意图

为了利用细乳液聚合的方法合成 DPA/螺吡喃基荧光可控纳米粒子, 首先将一定量的 SPMA, DPA 溶解到 MMA 单体中, 接着加入助乳化剂 HD 混合均匀, 再将混合体系加入到含表面活性剂 SDS 的水中超声分散均匀, 形成稳定的细乳液, 最后加入水溶性引

发剂 KPS 引发聚合, 即可得到含 DPA/螺吡喃基团的荧光可控纳米粒子。这种荧光可控纳米粒子能够在紫外或可见光的照射下进行荧光可逆的调控 (如图 1 所示)。

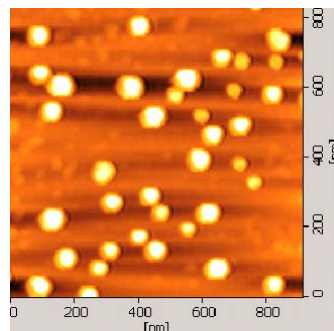


Figure2. AFM image of DPA/SPMA contained nanoparticles sample

图 2. 含 DPA/SPMA 的纳米粒子样品的 AFM 照片

图 2 给出了一个样品的原子力显微镜图像, 从图中可以发现, 大部分聚合物粒子是均匀分散的球形, 其直径大约在 50 nm 至 70 nm 之间。这表明, 通过细乳液聚合法能够制得所需要的荧光纳米粒子。

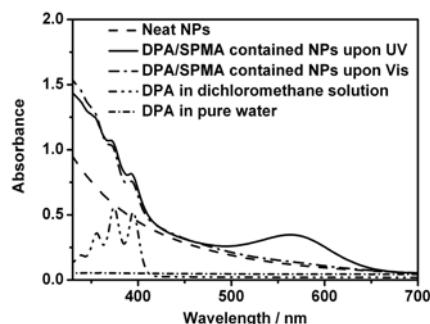


Figure 3. Absorption spectra of DPA/SPMA contained nanoparticles (NPs) sample upon UV or visible light irradiation, neat nanoparticles, DPA in pure water, as well as DPA in dichloromethane

图 3. DPA 及紫外或可见光照射下的荧光纳米粒子的吸收光谱图比较

在图 3 中, 含螺吡喃基团的纳米粒子, 在可见光照射后, 粒子中螺吡喃基团处于 SP 态, 所以表现为在 500-700 nm 间无吸收带存在; 而当在紫外光照射后, 在 500-700 nm 间出现一个新的吸收带, 这是粒子中螺吡喃基团已经开环成 McH 态所致, 这表明螺吡喃基团已经通过细乳液的方法成功结合进纳米粒子中。同样, 通过对比 DPA 在纳米粒子中、水中以及疏水低极性的二氯甲烷中的吸收光谱也可以判断, 通过采用细乳液聚合的方法, 可以将 DPA 结合进聚合物纳米粒子中。

图 4 显示了在纳米粒子中通过光引发粒子内的螺吡喃基团发生可逆结构上的变化来实现粒子内 DPA 荧光强度的可逆调控。当该荧光纳米粒子分散液在紫外光照射 20 分钟后,由于粒子中 DPA 与开环 McH 态螺吡喃之间发生了 FRET, 粒子中 DPA 的特征荧光发射峰降低了很多,同时在 650 nm 处出现一个较弱的新的发射带,这是螺吡喃基团开环后所表现出来的特征荧光峰;而当该纳米粒子再在可见光中照射 25 分钟后,由于粒子中 DPA 与闭环 SP 态螺吡喃之间不能发生 FRET, 粒子中 DPA 的特征荧光发射峰又重新恢复了,同时在 650 nm 处出现的发射带也基本上消失了。与此同时,制得的荧光纳米粒子在紫外光和可见光的照射后,在黑暗中用 365 nm 激发能看到不同的荧光(图 4),经紫外光照射后,在黑暗中用 365 nm 激发后,能够看到纳米粒子中开环螺吡喃基团所发出的紫色荧光。而经可见光照射后,在黑暗中用 365 nm 激发后,能够看到纳米粒子分散液所发出的蓝色荧光。

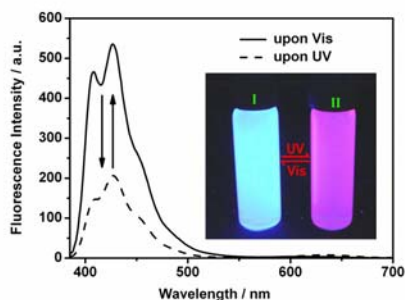


Figure 4. Fluorescence spectra and photographs (under the dark environment excited by UV light) of fluorescent nanoparticles sample upon alternating irradiation of UV and visible light

图 4. 荧光纳米粒子在紫外光和可见的照射后的荧光发射图以及在黑暗中经 UV 激发后的照片

我们还研究了所合成的荧光纳米粒子在紫外光和可见光的交替照射下的荧光可逆调控性质(图 5)。紫外光或可见光可以用来可逆地“打开”或“关闭”DPA 的荧光发射。在当前实验中,所合成的荧光纳米粒子表现出较好的可逆性,但经紫外-可见光照射数次后,也出现了一定程度的“疲劳”现象,其原因可能是染料经长时间光照发生光降解所致。

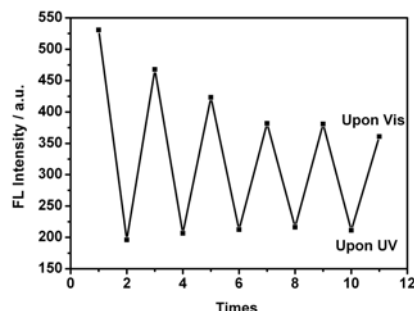


Figure 5. Reversible photoswitch nature of nanoparticles sample upon alternating irradiation of UV and visible light (emitted at 427 nm)

图 3.5 纳米粒子样品在紫外光和可见光的交替照射下在 427nm 处荧光强度的可逆变化图

4 结论

综上所述,采用一步细乳液聚合的方法,我们将荧光染料(DPA)和光致异构基团(螺吡喃)同时结合进了聚合物纳米粒子中。通过紫外和可见光触发纳米粒子中螺吡喃基团发生两种结构状态(开环 McH 态,闭环 SP 态)之间的转变,使给体 DPA 和受体 McH 态螺吡喃基团之间发生了 FRET,这种荧光纳米粒子还表现出了良好的荧光开关效果和可逆性,具有荧光可逆调控性能。这个实验结果表明,细乳液聚合对于制备荧光可逆调控的光响应型纳米粒子来是一种可行的合成方法。这种方法同样也适应于结合别的生色团和功能性组分到单个的纳米粒子中。

References (参考文献)

- [1] Lakowicz J. R. Principles of fluorescence spectroscopy [M], 3rd edition, New York: Springer Science, 2006.
- [2] De Lorimier R. M., Smith J. J., Dwyer M. A., et al. Construction of a fluorescent biosensor family [J]. Protein Science, 2002, 11(11):2655-2675.
- [3] Tan L., Li Y., Drake T. J., et al. Molecular beacons for bioanalytical applications [J]. Analyst, 2005, 130(7):1002-1005.
- [4] Crano J. C., Gugliemetti R. J. Organic photochromic and thermochromic compounds [M]. New York: Plenum Press, 1999,53(3):24-29
- [5] Antonietti M., Landfester K. Polyreactions in miniemulsions [J]. Progress in Polymer Science, 2002, 27(4):689-757.