

Poly(*p*-phenyleneethynylene)계 수용성 공액화 고분자: 합성과 세포 이미징

김종호* · 최문수**** · Jinsang Kim*** · 이택승*†

*충남대학교 유기소재 · 섬유시스템공학과, **삼성 SDI 전자재료사업부
***Department of Materials Science and Engineering, University of Michigan
(2015년 6월 25일 접수, 2015년 8월 3일 수정, 2015년 8월 3일 채택)

Water-soluble Conjugated Poly(*p*-phenyleneethynylene)s: Synthesis and Cell Imaging

Jongho Kim*, Moon Soo Choi****, Jinsang Kim***, and Taek Seung Lee*†

*Organic and Optoelectronic Materials Laboratory, Department of Advanced Organic Materials and Textile System Engineering,
Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Marketing Team, Electronic Materials Division, Samsung SDI, Metan-dong 560, Youngtong-gu, Suwon, Gyeonggi-do 443-803, Korea

***Department of Materials Science and Engineering, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109, U. S. A.

(Received June 25, 2015; Revised August 3, 2015; Accepted August 3, 2015)

초록: 최근 수용성 형광 공액화 고분자를 이용한 세포 형광 이미징을 활용하여 생체물질의 정량 정성 분석에 대한 연구분야는 많은 관심을 끌고 있다. 이를 위하여 주사슬에 벤조싸이아다리아졸을 포함하는 poly(*p*-phenyleneethynylene)(PPE)형 수용성 형광 공액화 고분자를 합성하여, 주사슬 내 벤조싸이아다리아졸의 함량에 따라 수용액에서 청색부터 적색 형광까지 나타나는 형광 고분자를 얻었다. 이러한 PPE형 형광 공액화 고분자는 수용성을 갖기 위하여 고분자 곁사슬에 비이온성기인 올리고(에틸렌 글리콜)이 도입되었으며, 또한 올리고(에틸렌 글리콜)기 말단에 카르복실 산기를 도입하였다. 이 카르복실 산기는 세포와 상호작용할 수 있는 단백질 마커와 공유결합을 형성하였으며, 그 결과 형광 공액화 고분자를 사용한 선택적 세포 이미징이 성공적으로 수행되었다.

Abstract: We report a synthesis of water-soluble poly(*p*-phenyleneethynylene)(PPE) copolymers containing 2,1,3-benzothiadiazole for cell imaging. The polymers showed emission ranges from blue to red fluorescence according to their benzothiadiazole contents in the backbones. One of the nonionic groups, oligo(ethylene glycol) unit was incorporated in the side chain of the polymers to enhance water-solubility of the polymers. Carboxylic acid groups were introduced at the end of the oligo(ethylene glycol) unit for the specific interaction with cells. As a result, specific cell imaging was successfully accomplished using the red-emitting, water-soluble conjugated polymers containing benzothiadiazole.

Keywords: poly(*p*-phenyleneethynylene), water-soluble conjugated polymers, cell imaging, fluorescence.

서 론

공액화 고분자는 이중결합과 단일결합의 반복을 갖는 공액 구조에 기인하여 전도성 및 다양한 광학 특성을 지니는 유기 화합물이다. 이러한 특징때문에 유기태양전지나 유기발광다이오드, 유기트랜지스터 등 많은 분야에서 연구가 이루어지고 있으며, 산업적으로도 기존 금속물질을 대체할 차세대 반도체 재료로 각광받고 있다.¹⁻⁴ 특히 공액화 고분자는 특유의 공액 구조로 인하여 가시광 영역에서 흡수와 발광 특성을 지

니고 있으며, 이러한 특성을 기반으로 타겟 물질과 특이적 또는 비특이적 상호작용을 통한 발광 및 소광(quenching), 발광 색 변화 등의 광신호 변화를 이용한 다양한 물질의 검출에 대한 연구가 다양하게 수행되고 있다.⁵⁻⁷ 주로 물에서 생화학 물질을 검출하기 위한 바이오센서로 사용하기 위하여 수용성의 공액화 고분자 개발에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 일반적으로 수용성을 부여하기 위하여 공액화 고분자 곁사슬에 SO₃⁻, COO⁻ 등의 음이온성기,⁸⁻¹² NMe₃⁺ 등의 양이온성기¹³⁻¹⁶ 등의 이온성기를 도입하거나, 비이온성기인 올리고(에틸렌 글리콜)를 도입하는 방법이 있다.^{17,18} 이러한 수용성기들 중 비이온성기인 올리고(에틸렌 글리콜)기는 물에서 뿐 아니라 유기용매에서도 고분자에 용해성을 부여할 수 있기에 사용 용매에 제한이 없이 다양한 분야에 응용할 수 있는 공액

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: tslee@cnu.ac.kr

©2015 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

화 고분자를 합성할 수 있다.

많은 공액화 고분자들 중, poly(*p*-phenyleneethynylene) (PPE)는 상대적으로 쉬운 합성 방법과 물에서 높은 발광 효율 때문에 연구가 많이 이루어지고 있다.¹⁹⁻²³ 하지만, PPE형 공액화 고분자는 강직한 주사슬 구조에 의한 소수성 상호작용으로 강한 응집(aggregation)성질을 갖고 있어서 수용성을 부여하기에 어려움이 있었다. 따라서 본 논문에서는 PPE형 공액화 고분자의 응집을 방지하여 물에서 향상된 용해성을 위하여 별키한 비이온성기인 올리고(에틸렌 글리콜)를 도입된 PPE형 수용성 형광 고분자를 합성하였다.

형광 공액화 고분자가 가시광 영역에서 흡수와 발광 특성을 갖기 위하여 전자 받개 단위를 고분자 주사슬에 도입하며, 특히 벤조싸이아다이어졸(benzothiadiazole, BT) 유도체로 이루어진 단량체의 도입은 장파장 영역대의 다양한 발광색을 나타낼 수 있기에, 유기발광다이오드,²⁴⁻²⁶ 이광자 흡수 물질,²⁷ 유기태양전지,²⁸ 바이오센서²⁹⁻³¹ 등에 많이 활용되고 있다. 기존의 수용성 공액화 고분자는 주로 청색 형광을 발광하며, 이를 세포 이미징에 사용할 경우 조직 또는 세포 등 생체물질에서 자체적으로 발생하는 청색 자발형광(autofluorescence)으로 인하여 형광 공액화 고분자의 청색 형광과 구별하기 곤란하다는 단점이 있다.³² 또한 대부분의 수용성 공액화 고분자는 장파장 영역에서 발광 효율이 매우 낮아서 신호 검출의 한계가 있기 때문에, 이를 극복할 수 있는 장파장 발광 수용성 공액화 고분자의 합성에 대한 관심이 높아지고 있다.

따라서 본 논문에서는 공액화 고분자가 다양한 이미징 분야에 이용할 수 있도록, 고분자에 비이온성기인 올리고(에틸렌 글리콜)를 도입하여 수용성 특성을 부여하였고, 벤조싸이아다이어졸을 다양한 함량비로 도입하여 청색 형광부터 적색 형광까지 다양한 형광 발광 특성과 물 속에서 높은 양자 효율을 갖는 수용성 공액화 고분자를 합성하였다. 또한 합성된 PPE계 공액화 고분자는 수용액뿐만 아니라 유기용매에서도 잘 녹아 있는 상태로 다양한 형광색 발광특성을 나타냈다. 합성된 공액화 고분자 결사슬에 도입된 카르복실 산기(COOH)는 세포에 특이적 반응을 할 수 있는 마커의 관능기와 화학 결합이 가능하였으며, 이로 인하여 공액화 고분자가 특정 세포(B 세포)와 선택적으로 결합하는 세포 이미징 실험을 수행하였다.

실 험

기기 및 시약. 합성된 단량체와 고분자의 구조는 Varian사의 Inova 400으로 ¹H NMR(400 MHz)을 측정하여 분석하였다. UV-vis 흡수 스펙트럼은 Varian사의 Cary 50으로 측정하였으며, 형광 스펙트럼과 고분자의 양자 효율은 Photon Technology International사의 QuantaMaster4/2005로 측정하였다. 형광 현미경 촬영은 Olympus BX51를 이용하였다. 반

응에 사용된 모든 재료 및 시약은 알드리치와 아크로스에서 구입하여 특별한 정제 없이 사용하였다. 투석에 사용된 3차 증류수는 Millipore 사의 증류수기를 사용하여 제조하였다.

합 성. 1,4-Bis(1,3-bis(3,6,9-trioxadecyl)-2-glycerol)-2,5-diiodobenzene (1): 500 mL의 2구 플라스크에 2,5-diiodohydroquinone(1.19 g, 3.28 mmol)과 1,3-bis(3,6,9-trioxadecyl)-2-glycerol-2-toluenesulfonate(4.07 g, 7.55 mmol), potassium carbonate(3.17 g, 22.97 mmol)를 넣은 후, DMF(200 mL)에 용해하였다. 약 80 °C로 승온 후 24시간 동안 반응을 하였다. 상온으로 온도를 내린 후, 완전히 용매를 증발시키고, 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색의 액체를 얻었다(1.4 g, 수율 43%). ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 6.81(s, 2H, aromatic), 4.34(m, 2H, alkoxy), 3.75(m, 4H, alkyl), 3.54-3.30(m, 48H, alkoxy), 3.24 (m, 12H, alkoxy) ppm.

4,7-Diethynyl-2,1,3-benzothiadiazole (2): 100 mL의 2구 플라스크에 4,7-dibromobenzothiadiazole(1 g, 3.40 mmol)과 triphenylphosphine(63 mg, 0.24 mmol)을 넣은 후, triethylamine을 소량 넣었다. 반응 플라스크를 아르곤 가스로 충전하고, 1.25 mL(8.84 mmol)의 trimethylsilylacetylene을 마이크로피펫을 사용하여 넣었다. CuI(4 mg, 0.02 mmol)와 triphenylphosphine palladium(0) (14 mg, 0.02 mmol)을 추가로 넣었다. 90 °C로 온도를 올려 약 7시간을 반응 후, 실온으로 냉각한 후, 용매를 완전히 증발시키고 diethyl ether를 전개액으로 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 공기 중에서 불안정한 노란색 생성물을 얻었다(수율 0.7 g, 70%). 이를 곧바로 100 mL 2구 플라스크로 옮긴 후, 메탄올(30 mL)을 넣어 현탁액을 제조하고, potassium hydroxide(0.7 g)를 빠르게 첨가하면 용매의 색은 밝은 노란색에서 갈색으로 바뀐다. 실온에서 12시간 반응하고, 반응 후 용매는 완전히 증발시켰다. 메틸렌 클로라이드와 헥산의 1:1 전개액으로 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 오렌지색의 최종생성물을 얻었다(0.3 g, 수율 52%). ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 7.65(d, 2H, aromatic), 3.06 (s, 2H, alkyl) ppm.

(2,5-Diiodo-1,4-phenylene)bis(oxytrioxadodecanoic acid) (3): 100 mL 3구 플라스크에 2,5-diiodohydroquinone (0.595 g, 1.64 mmol)과 13-*O*-*p*-tosyl-4,7,10,13-tetraoxadodecanoic acid *tert*-butyl ester(1.77 g, 4.1 mmol), potassium iodide(0.15 g, 0.88 mmol), potassium carbonate(1.5 g, 11 mmol), 18-crown-6(0.92 g, 3.5 mmol)를 넣은 후, DMF (40 mL)에 용해하였다. 약 100 °C로 승온 후 아르곤 가스로 반응 플라스크가 채워진 상태로 48시간 동안 반응을 하였다. 상온으로 온도를 내린 후, 완전히 용매를 증발시키고, 소량의 CH₂Cl₂에 녹여 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색의 액체를 얻었다. 보호기를 제거하기 위해, 얻은 액체를 다시 CH₂Cl₂(40 mL)에 녹인 후 trifluoroacetic acid(30 mL)를 첨가한다. 약 2시간 동안 상온에서 반응을 진행한 후, 용매를 증

받시키고 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색의 액체를 얻었다(0.51 g, 수율 40%). $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz, CDCl}_3)$: δ 11.98(s, 2H, acid), 7.08(s, 2H, aromatic), 4.31(m, 4H, alkoxy), 3.75(m, 4H, alkyl), 3.54-3.38(m, 20H, alkyl), 2.74(m, 4H, alkyl) ppm.

1,4-Bis(1,3-bis(3,6,9-trioxadecyl)-2-glyceryl)2,5-diethynylbenzene (4): 100 mL 3구 플라스크에 **1**(3.17 g, 2.89 mmol)과 trimethylsilyl acetylene(0.94 mL, 6.65 mmol), 그리고 THF(8 mL)와 diisopropylamine(4 mL)을 넣었다. 아르곤 가스로 반응 플라스크를 채운 후, triphenylphosphine palladium(II) dichloride(9.8 mg, 0.014 mmol)와 copper iodide(2.6 mg, 0.014 mmol)를 추가로 넣었다. 12시간 반응 후 용매를 완전히 증발시켰으며, 메틸렌 클로라이드에 다시 용해하였다. 증류수로 두 번 추출을 하였으며, 마그네슘 설페이트로 물을 제거하였다. 에틸 아세테이트와 메탄올의 15:1 전개용매로 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 어두운 갈색의 생성물을 얻었다(수율 1.7 g, 61%). 이를 100 mL 2구 플라스크로 옮긴 후, THF(10 mL)와 메탄올(10 mL)을 넣고, potassium hydroxide(0.3 g, 5.28 mmol)를 넣었다. 4시간 동안 상온에서 반응하고, 용매를 완전히 증발시켰다. 생성된 고체를 메틸렌 클로라이드에 재용해 후, 증류수로 두 번 추출하고, 마그네슘 설페이트로 물을 제거하였으며, 에틸 아세테이트와 메탄올 4:1 비율의 혼합액을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 맑은 갈색의 최종 생성물을 얻었다(0.2 g, 수율 13.3%). $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz, CDCl}_3)$: δ 6.81(s, 2H, aromatic), 4.34(m, 2H, alkoxy), 3.75(m, 4H, alkyl), 3.54-3.30(m, 48H, alkoxy), 3.24(m, 12H, alkoxy), 3.06(s, 2H, alkyl) ppm.

PPE-BT₁₀의 중합: 50 mL Schlenk 플라스크에 **2**(1.1 mg, 6.2×10^3 mmol), **3**(24 mg, 0.031 mmol), **4**(25.5 mg, 0.028 mmol)를 넣고, DMF(5 mL)와 diisopropylamine(DIPA, 2.5 mL)를 넣은 후, 아르곤 가스로 반응 플라스크를 충전하고, copper iodide(0.059 mg, 3.1×10^5 mmol)와 triphenylphosphine palladium(0) (0.358 mg, 3.1×10^5 mmol)를 추가로 넣었다. 75 °C에서 60 시간 반응 후, 상온으로 온도를 내린 후, 용매를 완전히 증발시켰다. 이를 소량의 증류수에 녹이고, 에펜도프 튜브(Eppendorf tube)에서 원심 분리한 후, 분자량 12000-14000의 셀룰로오스 반투막으로 48시간 동안 투석하였다. 감압 하에서 동결 건조로 최종 생성물을 얻었다(0.048 g, 수율 79%). $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz, CDCl}_3)$: δ 10.0-11.0(m), 7.65(m), 6.81(m), 6.79(m), 4.34(m), 4.11(m), 3.79(m), 3.75(m), 3.54-3.30(m), 3.54-3.30(m), 3.24(m), 2.40(m) ppm.

PPE-BT₂₅의 중합: 50 mL Schlenk 플라스크에 **2**(4.2 mg, 0.0229 mmol), **3**(35.3 mg, 0.0458 mmol), **4**(20.4 mg, 0.0229 mmol)를 넣었다. DMF(5 mL)와 DIPA(2.5 mL)를 넣은 후, 아르곤 가스로 반응 플라스크를 충전하였다. Copper iodide(0.66 mg, 5.7×10^3 mmol)와 triphenylphosphine palladium(0) (1.08

mg, 5.7×10^3 mmol)를 추가로 넣었다. 이하 과정은 PPE-BT₁₀ 경우와 같다(57 mg, 수율 50%). $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz, CDCl}_3)$: δ 10.0-11.0(m), 7.65(m), 6.81(m), 6.79(m), 4.34(m), 4.11(m), 3.79(m), 3.75(m), 3.54-3.30(m), 3.54-3.30(m), 3.24(m), 2.40(m) ppm.

PPE-BT₅₀의 중합: 50 mL Schlenk 플라스크에 **1**(78.4 mg, 0.0879 mmol), **2**(16.1 mg, 0.0879 mmol), **3**(135.4 mg, 0.1758 mmol)을 넣었다. DMF(5 mL)와 DIPA(2.5 mL)를 넣은 후, 아르곤 가스로 반응 플라스크를 충전하였다. Copper iodide(0.16 mg, 8.7×10^4 mmol)와 triphenylphosphine palladium(0) (1.01 mg, 8.7×10^4 mmol)를 추가로 넣었다. 이하 과정은 PPE-BT₁₀ 경우와 같다(53 mg, 수율 78%). $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz, CDCl}_3)$: δ 10.0-11.0(m), 7.65(m), 6.81(m), 6.79(m), 4.34(m), 4.11(m), 3.79(m), 3.75(m), 3.54-3.30(m), 3.54-3.30(m), 3.24(m), 2.40(m) ppm.

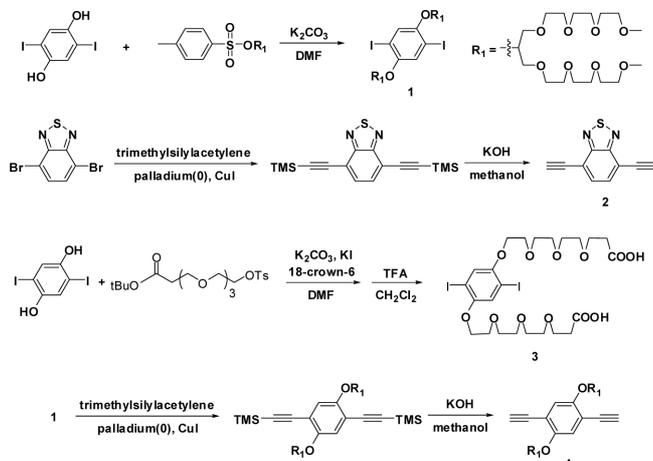
세포 이미징. 표면이 아민으로 치환된 글래스 슬라이드 기질에 PPE-BT₅₀를 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide/*N*-hydroxysulfosuccinimide(EDC/sulfo-NHS)와 같이 넣어 고분자를 글래스 슬라이드 표면에 부착시킨 후, B 세포의 마커(marker)로 알려진 CD20을 PPE-BT₅₀의 카르복실 산기와 반응시켰다.³³ 촉매인 EDC/sulfo-NHS를 통하여 고분자와 마커의 반응은 30분만에 이루어졌으며, 제조된 유리 기질을 B 세포와 T 세포가 담겨있는 수조에 약 2시간 동안 침지하여 배양하였다. 유리 기질에 완전히 부착되지 않은 세포 및 PPE-BT₅₀의 제거를 위해 증류수로 수차례 세척하였으며, 이를 형광 현미경으로 관찰하였다.

결과 및 토론

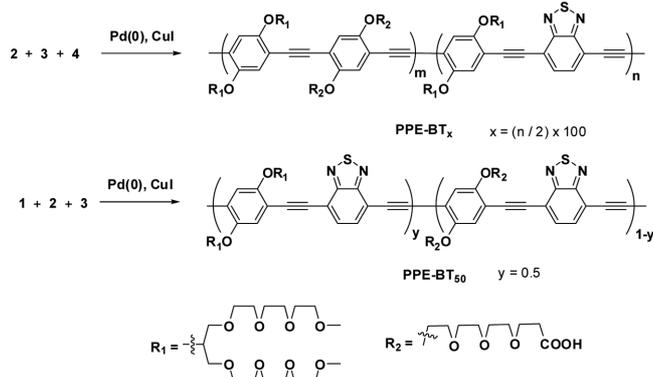
단량체 1, 2, 3, 4와 고분자 PPE-BT_x의 합성 반응 및 구조를 Scheme 1과 2에 나타냈다. 단량체는 기존의 보고된 방법으로 쉽게 합성되었으며, 고분자 중합은 팔라듐(0) 촉매에서 소노가시라 커플링(Sonogashira coupling) 반응을 통하여 합성되었다.³⁴⁻³⁶ 고분자 PPE-BT_x의 단량체 투입 비율을 Table 1에 나타내었다. 각각의 고분자는 젤투과크로마토그래피(GPC)를 통하여 분자량을 측정하려 하였으나, 모든 고분자가 포함하는 단량체 **1**과 **4**의 벌키한 결사슬에 기인하여 수십만에 달하는 높은 분자량이 측정되었지만, 분자량 12000-14000의 셀룰로오스 반투막으로 투석하였기 때문에, 약 14000에 해당하는 분자량을 예상할 수 있다. 모든 고분자는 소량의 증류수에도 좋은 용해성을 보였으며, DMF와 DMSO와 같은 극성 용매에도 용해성이 좋았으며, 증류수에 녹은 상태에서도 육안으로 인식 가능한 형광 효율을 보였다. 고분자 결사슬에 에틸렌 글리콜 단위를 갖는 단량체의 영향으로 고분자는 전체적으로 친수성을 갖게 되는데, 이는 벌키한 에틸렌 글리콜 반복 단위가 소수성인 고분자 주사슬을 감싸며 공액화 고분자

가 수용성을 갖게 한다고 알려져 있다.³⁷ 또한 단량체 **3**의 끝부분에 치환되어 있는 카르복실 산기는 친수성 역할뿐 아니라, 아민기를 갖는 대다수 바이오 물질과 반응좌석을 제공하여, 바이오 센서 및 세포 이미징 응용을 위한 최적의 조건을 갖는 고분자 화학구조를 갖게 한다. 또한 기존의 수용성 공액화 고분자가 흔히 갖고 있는 양이온성 또는 음이온성기를 PPE-BT_x 고분자는 갖고 있지 않아, 바이오 물질과 정전기적 상호작용 등에 의한 무작위적 결합, 즉 비특정적 상호작용을 감소시킬 수 있다.

합성된 고분자의 광 특성을 분석하기 위하여 고분자를 증류수에 각각 용해시켰다. 광 특성 분석을 위해 사용된 석영



Scheme 1. Synthesis of monomers.



Scheme 2. Synthesis of PPE-BT_x.

Table 1. Molar Feed Ratios of Monomers for PPE-BT_x (unit: %)

| Polymers | 1 | 2 | 3 | 4 |
|----------------------|----|----|----|----|
| PPE-BT ₁₀ | - | 10 | 50 | 40 |
| PPE-BT ₂₅ | - | 25 | 50 | 25 |
| PPE-BT ₅₀ | 25 | 50 | 25 | - |

큐벳은 부피 3 mL이며, 광 투과거리가 1 cm인 셀이다. 세가지 고분자 PPE-BT₁₀, PPE-BT₂₅, PPE-BT₅₀의 증류수와 DMSO 용액의 UV와 형광 스펙트럼을 Figure 1과 2에 각각 나타냈다. 각각의 고분자 PPE-BT_x는 증류수 용액 안에서 공통적으로 약 300-320 nm 영역에서의 phenyleneethynylene의 흡수와 400-550 nm 영역에서 벤조싸이아다디아졸의 흡수를 보였다. 고분자 내 벤조싸이아다디아졸의 함량이 늘어날수록 두 개의 흡수 파장 모두 레드 쉬프트(red-shift)하였으며, PPE-BT₁₀과 PPE-BT₅₀의 최대흡수파장의 차이는 약 120 nm까지 나타냈다. 이는 벤조싸이아다디아졸의 함량이 고분자 주사슬 내에 늘어날수록 전체적인 밴드갭(bandgap)이 낮아지는 것으로, 고분자 결사슬의 반복되는 알콕시 기가 전자 주개 역할을 하고, 벤조싸이아다디아졸이 전자 받게 역할을 하여, 전하이동량이 증가하기 때문이다.³⁸ 최대흡수파장과 마찬가지로 고분자 주사슬 내에 벤조싸이아다디아졸의 양이 증가함에 따라 최대방출파장도 레드 쉬프트하는 것을 보였다. 이는 PPE-BT₁₀과 PPE-BT₅₀의 최대흡수파장의 차이인 약 120 nm보다

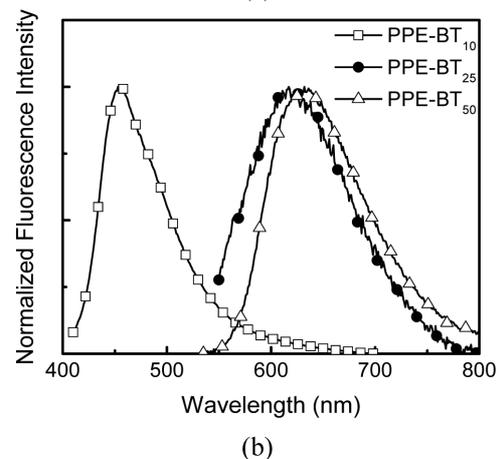
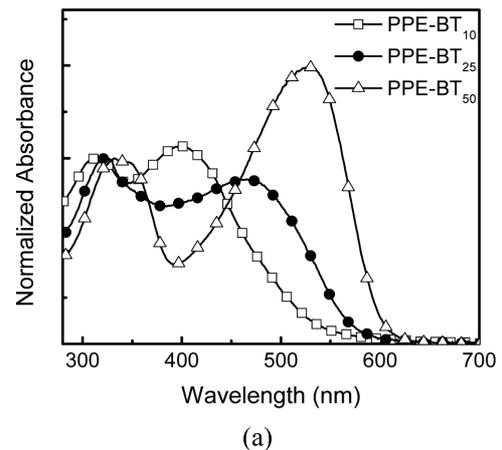


Figure 1. (a) Absorption; (b) fluorescence spectra of polymers in water. Excitation wavelength: 400 nm for PPE-BT₁₀ and 527 nm for PPE-BT₂₅ and PPE-BT₅₀.

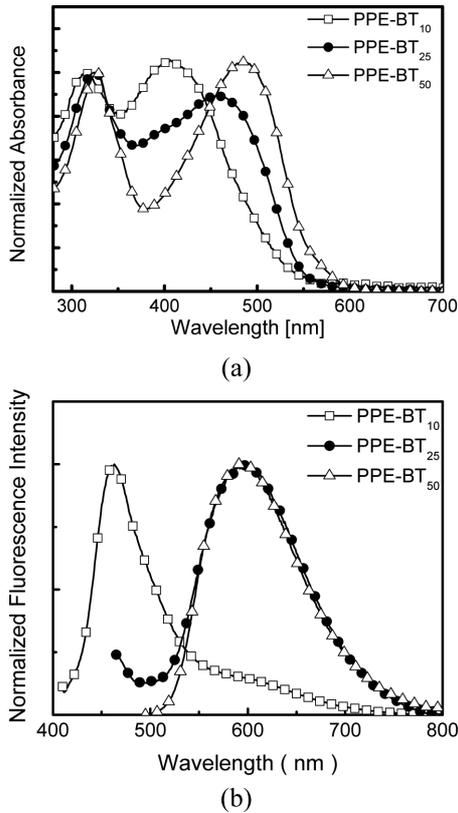


Figure 2. (a) Absorption; (b) fluorescence spectra of polymers in DMSO. Excitation wavelength: 405 nm for PPE-BT₁₀ and 470 nm for PPE-BT₂₅ and PPE-BT₅₀.

Table 2. Photophysical Properties of PPE-BT_x

| Polymers | Solvent | Absorption (nm) | Emission (nm) | Φ_f (%) ^a |
|----------------------|------------------|-----------------|---------------|---------------------------|
| PPE-BT ₁₀ | H ₂ O | 313, 400 | 454 | 3.6 |
| | DMSO | 317, 405 | 463, 598 | 5.8 |
| PPE-BT ₂₅ | H ₂ O | 315, 466 | 622 | 4.6 |
| | DMSO | 318, 460 | 597 | 5.2 |
| PPE-BT ₅₀ | H ₂ O | 320, 527 | 632 | 1.4 |
| | DMSO | 319, 487 | 598 | 5.6 |

^aQuantum yields (Φ_f) were determined using rhodamine B in ethanol (65%) as the reference.

더 커진 약 160 nm의 최대방출파장 차이를 보여 주었다. 합성된 고분자들은 DMSO 용액 내에서도 증류수 용액과 같이 주사슬 내에 벤조싸이아다리아졸의 양이 늘어남에 따라 최대 흡수파장과 최대방출파장이 레드 쉬프트하는 경향을 보였으나, 증류수 용액과 비교했을 경우, 양자 효율에서 다소 차이를 보였다. 이는 증류수 용액에서 고분자의 용해성이 DMSO에 비해 좋지 않아, 고분자가 응집이 일어났기 때문이며, 이러한 고분자의 응집은 분자간 π - π 상호작용에 의해 형광 효

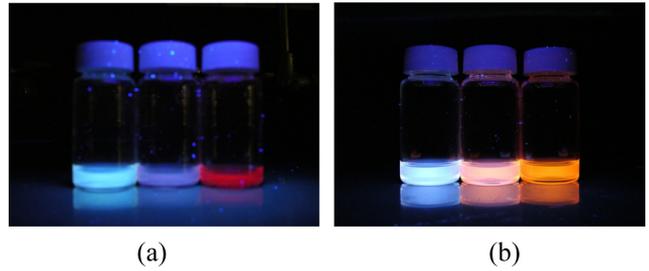


Figure 3. Photographs of PPE-BT₁₀, PPE-BT₂₅, and PPE-BT₅₀ (from left to right) in (a) aqueous; (b) DMSO solutions under UV irradiation (365 nm). [PPE-BT_x] = 2.00×10^{-5} M.

율이 낮아지는 결과를 보인다고 알려져 있다.^{39,40} 각각 고분자의 최대흡수파장과 최대방출파장 및 양자 효율을 정리하여 Table 2에 나타내었다.

지금까지 보고된 수용성 공액화 고분자는 청색 및 녹색 형광을 갖는 수용성 공액화 고분자가 대부분이었으며,^{15,41} 적색 형광을 갖는 수용성 공액화 고분자가 보고된 경우가 있지만, 양자 효율이 저조하여 응용 가능성이 낮았다.³⁷ 본 논문에서 보고하는 적색 형광을 갖는 PPE-BT₅₀은 비록 낮은 양자 효율을 갖고 있지만 기존 보고의 23배에 달하는 양자 효율 향상을 보였으며, 육안으로도 충분히 식별 가능한 발광 특성을 보이고 있다.³⁸ 고분자 용액의 형광 사진을 Figure 3에 나타내었으며, 고분자 내의 벤조싸이아다리아졸의 함량에 따라 다양한 밴드갭을 갖는 수용성 형광 공액화 고분자가 제조되었다.

수용성 공액화 고분자인 PPE-BT₅₀은 주사슬에 카르복실 산기를 갖고 있어 바이오 물질의 아민기 또는 싸이올(thiol)기와 반응이 가능한 것을 이용하여, PPE-BT₅₀을 형광체로 사용하여 B세포의 선택적 세포 이미징을 수행하였다. 인체 내로 병원체들이 침입하면 우리의 몸에서는 면역 체계가 작동하며, 이때 가장 중요한 역할을 하는 것이 B세포와 T세포이다. 이원적이면서도 체계적인 면역활동을 수행하는 B세포 및 T세포의 세포 이미징은 면역활동의 정확한 정보를 얻기 위해 많이 연구되고 있다.⁴² 고분자 결사슬에 존재하는 카르복실산기의 반응성을 이용하여 PPE-BT₅₀을 아민기가 표면에 도입된 유리 기질에 부착시킨 후, PPE-BT₅₀ 결사슬의 잔여 카르복실 산기와 EDC/sulfo-NHS 반응을 통하여 B 세포의 마커인 CD20 단백질 마커 물질을 반응하여 글래스 슬라이드에 도입된 PPE-BT₅₀에 부착하였다. 글래스 슬라이드를 B 세포와 T세포가 혼합된 수조에 침지한 후, 30분간 배양하였다. 불특정 결합을 제거하기 위하여, 증류수로 수 차례 세척 후 광학 이미지를 살펴보았으며, 그 결과인 형광 세포 이미징 사진을 Figure 4에 나타내었다. 광학 현미경으로 관찰하면 B세포와 T 세포 모두 글래스 슬라이드 기질과 불특정 결합으로 표면에 존재하는 것을 확인하였지만(광학이미지), 형광 현미경으로 관찰 시에는 B 세포에서만 PPE-BT₅₀의 적색 형광이 뚜렷하게 관찰되었다. 이는 고분자에 CD20 마커가 도입되어,

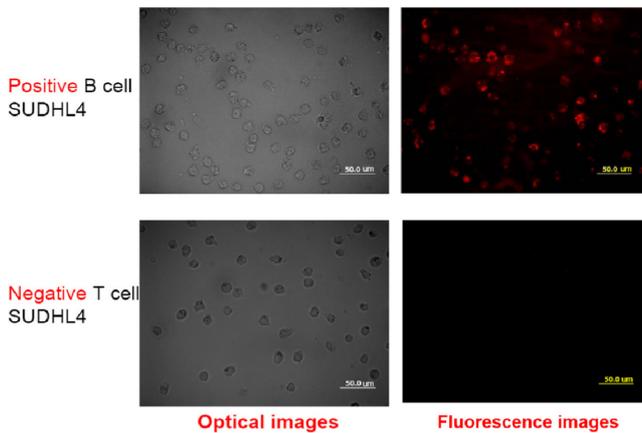


Figure 4. Optical and fluorescence images of B (upper) and T cells (bottom) using PPE-BT₅₀.

CD20 마커와 B 세포간 결합에 의하여 B 세포에 PPE-BT₅₀이 결합되었고, 또한 PPE-BT₅₀이 좋은 수용성을 갖고 있기 때문에 글래스 슬라이드 표면 도입과 CD20 마커와 반응이 가능하다는 것을 의미한다. 결과적으로 검출하고자 하는 B세포만 CD20 마커에 의해 결합이 형성되어 세포 이미징이 구현되었으며, T 세포는 어떠한 형광 이미지도 관찰되지 않아, B 세포의 선택적 검출 및 세포 이미징이 가능하였다.

결론

벤조사이아다리아졸을 포함하는 PPE를 주사슬로 갖는 수용성 형광 공액화 고분자를 합성하기 위하여 고분자 결사슬에 올리고(에틸렌 글리콜)를 도입하였다. 합성된 형광 공액화 고분자는 물에 녹는 성질을 가지고 있기 때문에 세포의 형광 이미징에 사용하였다. 고분자 주사슬 내에 전자를 당기는 벤조사이아다리아졸 단위의 함량이 높을수록 형광 공액화 고분자의 발광색이 점차 장파장 영역으로 변화하였다. 그 결과 벤조사이아다리아졸의 함량 조절에 따라 청색 형광부터 적색 형광까지 다양한 발광을 하는 고분자들을 제조하여 고분자의 형광색을 쉽게 조절하였다. 수용성화를 위한 올리고(에틸렌 글리콜)의 결사슬 도입뿐 아니라, 바이오센서에 응용할 수 있도록 카르복실 산기를 도입함에 따라 특정세포와 특이적 화학 결합이 가능하였으며, 그로 인해 B 세포의 마커(CD20)와 결합하였고, 그 결과 B 세포만을 선택적으로 형광 이미징하였다.

감사의 글: 본 연구는 충남대학교 학술연구비 2014 지원으로 수행되었습니다.

참고 문헌

1. T. A. Skotheim, R. L. Elsenbaumer, and J. Reynolds, *Handbook*

- of Conducting Polymers*, 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 1997.
2. G. Hadziioannou and P. F. van Hutten, *Semiconducting Polymers*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
 3. P. Chandrasekhar, *Conducting Polymers, Fundamentals and Applications*, Kluwer, Boston, 1999.
 4. S. Miyata and H. S. Nalwa, *Organic Electroluminescence Materials and Devices*, Gordon and Breach, Amsterdam, 1997.
 5. S. W. Thomas, G. D. Joly, and T. M. Swager, *Chem. Rev.*, **107**, 1339 (2007).
 6. D. T. McQuade, A. E. Pullen, and T. M. Swager, *Chem. Rev.*, **100**, 2537 (2000).
 7. B. Liu and G. C. Bazan, *Chem. Mater.*, **16**, 4467 (2004).
 8. D. Kim, G. Jang, J. Kim, S. Seo, W. H. Park, and T. S. Lee, *Macromol. Rapid Commun.*, **33**, 1510 (2012).
 9. G. Jang, J. Kim, D. Kim, and T. S. Lee, *Polym. Chem.*, **6**, 714 (2015).
 10. D. Kim and T. S. Lee, *Chem. Commun.*, **50**, 5833 (2014).
 11. B. S. Harrison, T. J. Foley, A. S. Knefely, J. K. Mwaura, G. B. Cunningham, T. S. Kang, M. Bouguettaya, J. M. Boncella, J. R. Reynolds, and K. S. Schanze, *Chem. Mater.*, **16**, 2938 (2004).
 12. L. H. Chen, D. W. McBranch, H. L. Wang, R. Helgeson, F. Wudl, and D. G. Whitten, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **96**, 12287 (1999).
 13. N. Y. Kwon, G. Jang, D. Kim, J. Kim, and T. S. Lee, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **51**, 2393 (2013).
 14. K. R. Kim, S. H. Oh, H. B. Kim, J. P. Jeun, and P. H. Kang, *Polym. Korea*, **38**, 38 (2014).
 15. Y. Wang, R. Zhan, T. Li, K.-Y. Pu, Y. Wang, Y. C. Tan, and B. Liu, *Langmuir*, **28**, 889 (2012).
 16. K.-Y. Pu, R. Zhan, and B. Liu, *Chem. Commun.*, **46**, 1470 (2010).
 17. K. Lee, L. K. Povlich, and J. Kim, *Adv. Funct. Mater.*, **17**, 2580 (2007).
 18. J. Li, C. Tian, Y. Yuan, Z. Yang, C. Yin, R. Jiang, W. Song, X. Li, X. Lu, L. Zhang, Q. Fan, and W. Huang, *Macromolecules*, **48**, 1017 (2015).
 19. U. H. F. Bunz, *Chem. Rev.*, **100**, 1605 (2006).
 20. T. M. Swager, *Acc. Chem. Res.*, **31**, 201 (1998).
 21. C.-C. You, O. R. Miranda, B. Gider, P. S. Ghosh, I.-B. Kim, B. Erdogan, S. A. Krovi, U. H. F. Bunz, and V. M. Rotello, *Nat. Nanotechnol.*, **2**, 318 (2007).
 22. A. Khan, S. Müller, and S. Hecht, *Chem. Commun.*, **5**, 584 (2005).
 23. C. J. Yang, M. Pinto, K. Schanze, and W. Tan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 2572 (2005).
 24. Q. Hou, Y. Wu, W. Yang, M. Yuan, J. Peng, and Y. Cao, *J. Mater. Chem.*, **12**, 2887 (2002).
 25. C. V. Hoven, A. Garcia, G. C. Bazan, and T.-Q. Nguyen, *Adv. Mater.*, **20**, 3793 (2008).
 26. K. R. J. Thomas, J. T. Lin, M. Velusamy, Y. Tao, and C. Chuen, *Adv. Funct. Mater.*, **14**, 83 (2004).
 27. S. I. Kato, T. Matsumoto, M. Shigeiwa, H. Gorohmaru, S. Maeda, T. Ishi, and S. Makata, *Chem. Eur. J.*, **12**, 2030 (2006).

28. S. P. Wen, J. Pei, Y. Zhou, P. Li, L. Xue, Y. Li, B. Xu, and W. Tian, *Macromolecules*, **42**, 4977 (2009).
29. J. H. Lee, D. G. Kim, N. Y. Kwon, G. S. Jang, J. H. Son, M. Lee, H.-J. Cho, H.-S. Kweon, and T. S. Lee, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **49**, 138 (2011).
30. N. Y. Kwon, D. G. Kim, J. H. Son, G. Jang, J. H. Lee, and T. S. Lee, *Macromol. Rapid Commun.*, **32**, 1061 (2011).
31. S. Seo, J. Kim, G. Jang, D. Kim, and T. S. Lee, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6**, 918 (2014).
32. M. Monici, *Biotechnol. Annu. Rev.*, **11**, 227 (2005).
33. K. Lee, J.-M. Rouillard, T. Pham, E. Gulari, and J. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 4667 (2007).
34. B. A. D. Neto, A. S. Lopes, G. Ebeling, R. S. Goncalves, V. E. U. Costa, F. H. Quina, and J. Dupont, *Tetrahedron*, **61**, 10975 (2005).
35. Q. Zhou and T. M. Swager, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 12593 (1995).
36. K. M. Atkins, F. M. Martinez, A. Nazemi, T. J. Scholl, and E. R. Gillies, *Can. J. Chem.*, **89**, 47 (2011).
37. K. Lee, J. C. Cho, J. DeHeck, and J. Kim, *Chem. Commun.*, **9**, 1983 (2006).
38. X. Zhao, M. R. Pinto, L. M. Hardison, J. Mwaura, J. Muller, H. Jiang, D. Witker, V. D. Kleiman, J. R. Reynolds, and K. S. Schanze, *Macromolecules*, **39**, 6355 (2006).
39. J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley, London, 1970.
40. C.-T. Chen, *Chem. Mater.*, **16**, 4389 (2004).
41. B. Liu, S. Wang, G. C. Bazan, and A. Mikhailovsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13306 (2003).
42. P. Travers, M. Walport, and M. Shlomchik, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, 5th Ed., New York, Garland Science, 2001.