

9. George, J. Janz Molten Salts Handbook [Текст] / Janz George J. – New York : Academic Press Inc., 1967. – 602 с.
10. Технология переработки нефти. В 2-х частях. Часть 1. Первичная переработки нефти [Текст] / Под ред. О. Ф. Глаголевой и В. М. Капустина. – М. : Химия, КолосС, 2007. – 400 с.
11. Пенный режим и пенные аппараты [Текст] / Под ред. И. П. Мухленова и Э. Я. Тарата. – Л. : Химия, 1977. – 304 с.

УДК 678.8; 678:66.08/09

Досліджено люмінесцентні властивості наночастинок фосфатів лантану, допованих катіонами европію, з функціональною олігопероксидною оболонкою, вивчено кінетичні закономірності прищепленої полімеризації ініційованої з поверхні наночастинок. Функціоналізація поверхні прищепленою полімеризацією надає наночастинкам сумісності та/або можливості зв'язування з субстратами різної природи для використання при створенні люмінесцентних біосенсорів та маркерів клітин

Ключові слова: люмінесцентні наночастинок, прищеплена полімеризація, маркери клітин, функціональні олігопероксиди

Исследованы люминесцентные свойства наночастиц фосфатов лантана, допированных катионами европия, с функциональной олигопероксидной оболочкой, изучены кинетические закономерности привитой полимеризации инициированной с поверхности наночастиц. Функционализация поверхности привитой полимеризацией обеспечивает совместимость наночастиц и/или возможность связывания с субстратами различной природы для использования при создании люминесцентных биосенсоров и маркеров клеток

Ключевые слова: люминесцентные наночастицы, привитая полимеризация, маркеры клеток, функциональные олигопероксиды

ЛЮМІНЕСЦЕНТНІ НАНО-РОЗМІРНІ МАРКЕРИ КЛІТИН НА ОСНОВІ ФОСФАТІВ ЛАНТАНУ

О. В. Шаповал

Кандидат хімічних наук, науковий співробітник
Кафедра радіоелектронних пристроїв та систем*
E-mail: shapovalav86@gmail.com

О. С. Мягkota

Аспірант
Кафедра органічної хімії*
E-mail: miahkota@gmail.com

Р. Р. Панчук

Кандидат біологічних наук, науковий співробітник**
E-mail: rpanchuk@ukr.net

В. В. Вістовський

Кандидат фізико-математичних наук, доцент***
E-mail: vistvv@gmail.com

Н. Є. Мітіна

Кандидат хімічних наук, ст. науковий співробітник
Кафедра технології органічних продуктів*
E-mail: nem@polynet.lviv.ua

А. С. Волошиновський

Доктор фізико-математичних наук, професор***
E-mail: avolosh@ukr.net

Р. С. Стойка

Доктор біологічних наук, професор**
E-mail: stoika@cellbiol.lviv.ua

О. С. Заіченко

Кандидат хімічних наук, провідний науковий співробітник
Кафедра органічної хімії*
E-mail: zaichenko@polynet.lviv.ua

*Національний університет «Львівська політехніка»
вул. Степана Бандери, 12, м. Львів, Україна, 79013

**Відділ регуляції проліферації клітин та апоптозу
Інститут біології клітини НАН України
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, Україна, 79005

***Кафедра експериментальної фізики
Львівський національний університет ім. Івана Франка
вул. Кирила і Мефодія, 8, м. Львів, Україна, 79005

1. Вступ

Використання люмінесцентних маркерів дозволило значно розширити діапазон зон та підвищити чутливість методів аналізу в біомедичних дослідженнях [1, 2]. Традиційно для цієї мети викори-

стовують органічні люмінофори. Проте ряд недоліків, таких як низька фотостабільність, малий час зрушення люмінесценції і токсичність, обмежують їх придатність.

Люмінесцентні матеріали на основі фосфатів лантану, лютецію та інших солей, активовані іонами

рідкісноземельних елементів, знаходять широке використання в різноманітних галузях.

Люмінесцентні матеріали на основі фосфатів лантану, активовані іонами рідкісноземельних елементів, знаходять широке використання в різноманітних галузях. Все більшу увагу привертають дослідження наночастинок на основі LaPO_4 , допованих катіонами Eu [3, 4]. Він є привабливим як люмінофор, що випромінює у видимій червоній області спектру, може збуджуватися рентгенівським та УФ випромінюванням в доступному діапазоні довжин хвиль, а також для використання для діагностичних цілей в біології і медицині [5, 6]. Вагомим значенням LaPO_4 є його протонопровідність [7], що є перспективним для використання в якості чутливих шарів в газових сенсорних приладах. Важливе значення має європій, як активатор люмінофорів [8].

2. Аналіз літературних даних і постановка проблеми

Синтез наночастинок LaPO_4 , допованих катіонами європію, темплатним методом із водних розчинів солей в присутності реакційноздатного пероксидовмісного модифікатора поверхні (РПО, рис. 1) представлено в наших попередніх роботах [9, 10].

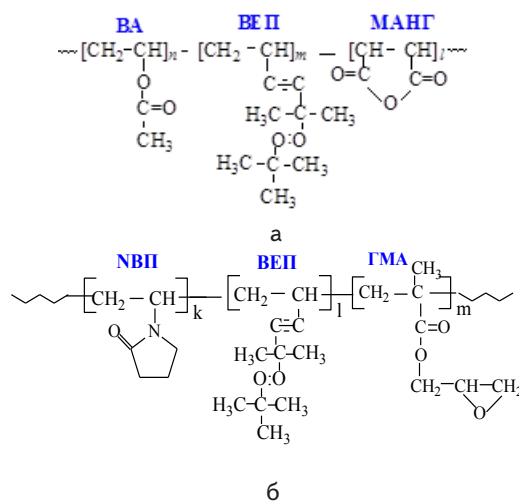


Рис. 1. Реакційноздатні пероксидовмісні модифікатори поверхні: а – оліго(N-вініл-2-піролідон (NBП) – 2-третбутилперокси-5-метил-1-гексен-3-іну (ВЕР) – гліцидилметакрилат (ГМА)); б – оліго(вінілацетат (ВА) – ВЕР – малеїновий ангідрид (МА))

Даний спосіб дозволяє отримати наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з іммобілізованим на поверхні реакційноздатним модифікатором, регулювати та контролювати їх розмір і розподіл за розміром та кристалічну структуру в процесі синтезу, і одночасно формувати реакційноздатну олігопероксидну оболонку в результаті хімічної адсорбції полімерного модифікатора, що використовується, як темплат.

Наявність на поверхні отриманих наночастинок радикалоутворюючих груп, які входять до складу пероксидної оболонки, дає можливість проводити за рахунок радикальної прищепленої полімеризації подальшу функціоналізацію поверхні для надання їй сумісності та/або можливості зв'язування

з субстратами різної природи для використання при створенні люмінесцентних біосенсорів та маркерів для ідентифікації генів, а також формування композиційних наповнених матеріалів для біомедицини, опто- і мікроелектроніки.

Тому метою даної роботи є дослідження формування полімерних композитів, наповнених наночастинами фосфатів лантану, для різних цілей їх практичного застосування та вивчення їх люмінесцентних та біологічних властивостей.

3. Експериментальна частина

В дані роботі представлено дослідження люмінесцентних властивостей поліфункціональних нанокompозитів LaPO_4 , допованих катіонами європію, що складається з люмінесцентного ядра та біосумісної полімерної оболонки, вивчено кінетичні характеристики водо- і органодисперсійної полімеризації, ініційованої з поверхні наночастинок, та проведено дослідження по міченню ракових клітин меланоми.

Наявність і кількість карбоксильних груп, присутніх у структурі РПО, які здатні до хімічної взаємодії з іонами лантанідів утворених наночастинок, є ключовим чинником, який визначає розмір наночастинок (від 4 до 20 нм) і кількість іммобілізованих на їх поверхні молекул олігомерів та люмінесцентні властивості [9].

Спектри збудження люмінесценції наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ синтезованих у присутності РПО оліго(NBП-ВЕР-ГМА), який є частково прозорий в УФ діапазоні, та РПО оліго(ВА-ВЕР-МА) показані на рис. 2.

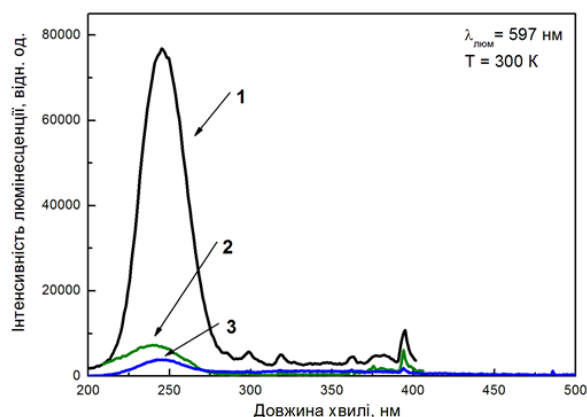


Рис. 2. Спектри збудження люмінесценції наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ синтезованих у присутності РПО: 1 – оліго(NBП-ВЕР-ГМА); 2 – без оліго(ВА-ВЕР-МА); 3 – без РПО

Слабка інтенсивність люмінесценції наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$, покритих РПО оліго (ВА-ВЕР-МА), при збудженні світлом із довжиною хвилі 250 нм пояснюється поглинанням випромінювання оболонкою функціонального модифікатора оліго (ВА-ВЕР-МА). Наночастинки $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$, які покриті РПО оліго(NBП-ВЕР-ГМА), демонструють інтенсивності випромінювання приблизно в півтори рази більші ніж непокриті. Використання функціонального оліго (NBП-ВЕР-ГМА), прозорого для спектральної області

$\lambda > 230$ нм, забезпечує ефективну люмінесценцію функціоналізованих наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ при їх збудженні УФ - випромінюванням.

Реакційноздатні пероксидовмісні олігомери, які іммобілізовані на поверхні частинок, здатні утворювати вільні радикали в широкому діапазоні температур та забезпечувати контрольований перебіг полімеризації.

З використанням наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ було проведено водо- і органодисперсійну полімеризацію сумішей полярних функціональних мономерів, яка була ініційована пероксидними групами локалізованими на поверхні частинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$, при концентрації наночастинок 50%, $T = 50$ °C, час синтезу - 5 год. Конверсія мономерів становила 55-68%. В результаті отримано модифіковані наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з функціональною оболонкою. Полімеризаційний процес ініційувався з поверхні наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ за рахунок іммобілізованих пероксидних фрагментів РПО без використання додаткового ініціатора, що свідчить про можливість подальшої цілеспрямованої функціоналізації наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ для певних застосувань. Характеристики модифікованих наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з функціональною оболонкою наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Характеристики полімеризації функціональних мономерів, ініційованої з поверхні наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з оболонкою з молекул ПАП* ($T = 323\text{K}$)

Розчинник	Мономерна суміш	Концентрація наночастинок, % мономер	Швидкість полімеризації, (%/с)* 10^3	Гранична конверсія, S, %	Кількість прищепленого полімеру, % на частинки
1,4-діоксан	НВП –ГМА 70:30 % мол	50	0,88	68	16,5
	НВП- ГМА 80:20 % мол	50	0,69	65	17,8
	НВП- ГМА 90:10 % мол	50	0,52	55	17,5
Водно-аміачний розчин	НВП- ПЕГакр2000-ГМА 72:14:14 % мол	50	5,8	95	22,0
		100	9,5	95	28,5

Примітка: * оліго (НВП-ко-ВВП-ко-ГМА)

Контроль швидкості полімеризації та виходу прищепленого полімеру при ініціюванні з поверхні наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ можна здійснювати варіюванням складу мономерної суміші, концентрацією наночастинок – ініціатора та полярністю середовища.

Нові наноконкомпозити, які складаються з люмінесцентного мінерального ядра $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$, та полімерної оболонки заданої функціональності, гідрофільності та біологічної сумісності, можуть бути використані як аналітичні реагенти у біохімії та біології для мічення та сепарації клітин.

Наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з прищепленою полімерною оболонкою полі(НВП–ГМА) досліджено як аналітичні реагенти для мічення ракових клітин меланоми (рис. 3).



Рис. 3. Клітини меланоми людини лінії SK-MEL-28[®], мічені наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з полімерною оболонкою полі(НВП–ГМА) в результаті фагоцитозу (Дослідження виконані в Інституті біології клітини НАНУ)

Частинки $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з полімерною оболонкою локалізуються в цитоплазмі, однак не проникають в ядро клітини. Очевидно, це пояснюється їх великим розміром, який не дозволяє їм проникнути через ядерні пори в ядро клітини. При виконанні дослідження емпіричним методом встановлено, що оптимальна концентрація наночастинок для мічення клітин – 1 мкг/мл. При концентрації 10 мкг/мл надлишок люмінесцентних наночастинок створює зайвий фон (рис. 4). Функціоналізовані наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$, які світять у червоному діапазоні спектра, можна виявити у всій цитоплазмі клітини, з більшою концентрацією у перинуклеарній зоні. При зростанні концентрації частинок з 1 до 10 мкг/мл суттєвих змін у їх специфіці проникнення до клітин виявлено не було.

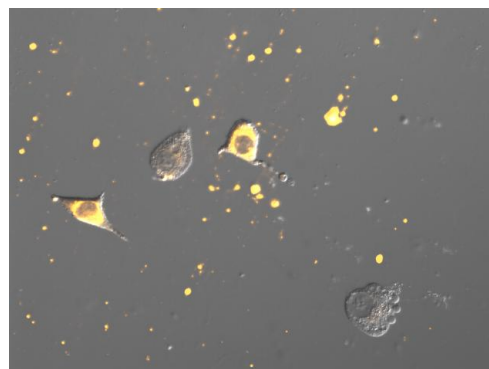


Рис. 4. Клітини меланоми людини лінії SK-MEL-28, мічені наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з полімерною оболонкою полі(НВП–ГМА) в результаті фагоцитозу (концентрація наночастинок 10 мкг/мл)

Люмінесцентні наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ з функціональною оболонкою є перспективними реагентами для мічення клітин і можуть використовуватися для медичної діагностики.

4. Висновок

Дослідженню люмінесцентні властивості поліфункціональних наноконкомпозитів LaPO_4 , доповнених катіонами Європію, вивчено кінетичні характеристики водо- і органодисперсійної полімеризації,

ініційованої з поверхні наночастинок, та проведено дослідження по міченню ракових клітин меланоми. Використання функціонального оліго (NBП-ВЕР-ГМА), прозорого для спектральної області $\lambda > 230$ нм, забезпечує ефективну люмінесценцію функціоналізованих наночастинок $\text{LaPO}_4 \cdot \text{Eu}^{3+}$ при їх збудженні УФ - випромінюванням. Прищеплення функціональних полімерних ланцюгів водо- і

органодисперсійною полімеризацією забезпечує наночастинкам спорідненості до певних середовищ та матеріалів, реакційну здатність, біологічну толерантність, можливість кон'югації з антитілами для адресного розпізнавання і мічення клітин.

Частина досліджень виконувалась в рамках Гранту Президента України для підтримки наукових досліджень молодих учених (проект GP/F49/145).

Література

1. Wang, F. Luminescent nanomaterials for biological labeling [Текст] / F. Wang, W. B. Tan, Y. Zhang et al. // Nanotechnology. – 2006. – 17. – R1-R13.
2. Карнаухов, В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клеток [Текст] / В. Н. Карнаухов. – Москва: Наука, 1978. – 204 с.
3. Pushpal, G. Structural and photoluminescence properties of doped and core-shell $\text{LaPO}_4:\text{Eu}^{3+}$ nanocrystals [Текст] / G. Pushpal, K. Arik, P. Amitava // Journal of Applied Physics. – 2010 – Vol. 108, №11. – P. 3506-3508.
4. Yan, Z.-G. Controlled synthesis of rare earth nanostructures [Текст] / Z. G. Yan, C.-H. Yan // Journal Materials Chemical. – 2008 – Vol. 18. – P. 5046-5059.
5. Murthy, Sh. K. Nanoparticles in modern medicine: State of the art and future challenges [Текст] / Sh. K. Murthy // Int. J. Nanomed. – 2007. – Vol. 2, № 2. – P. 129-141.
6. Chan, W. C. W. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging [Текст] / W. C. W. Chan, D. J. Maxwell, X. Gao et al. // Current Opinion in Biotechnology. – 2002. – Vol. 13. – P. 40–46.
7. Norby, T. Proton conduction in Ca- and Sr-substituted LaPO_4 [Текст] / T. Norby, N. Christiansen // Solid State Ionics. – 1995 – Vol.77. – P. 240– 243.
8. Популярная библиотека химических элементов. [Текст] /под ред. И. В. Петрянова-Соколова. – М.: Издательство «Наука»,1977. – 520 с.
9. Шаповал, О. В. Темплатний синтез і властивості люмінесцентних наночастинок $\text{LaPO}_4\text{-Eu}$ з олігопероксидною оболонкою [Текст] / О. В. Шаповал, Н. Є. Мігіна, А. С. Волошиновський, Т. С. Малый, В. В. Вістовський, Ю. О. Кулик, Т. Є. Константинова, О. С. Заїченко // Наноструктурное материаловедение. – 2011. – №2. – С. 3-13.
10. Шаповал, О. Синтез люмінесцентних наноконкомпозитів $\text{LaPO}_4\text{-Eu}$ з функціональною полімерною оболонкою [Текст] / О. Шаповал, Н. Мігіна, О. Заїченко, А. Волошиновський, В. Вістовський // Східно-Європейський журнал передових технологій. – 2011. – Т. 4, № 5(52). – С. 63-66.