

УДК 54.058+544.72.02

Луговский А. П.¹, Пархоменко В. А.², Луговский А. А.², Тарасов Д. С.¹,
Гусаков Г. А.¹, Белько Н. В.¹

ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КОНЬЮГАТОВ ДЕТОНАЦИОННОГО НАНОАЛМАЗА И КРАСИТЕЛЕЙ СТИРИЛОВОГО, ЦИАНИНОВОГО И ДИЦИАНОМЕТИЛЕНПИРАНОВОГО РЯДОВ

¹Научно-исследовательское учреждение «Институт прикладных физических проблем имени А.Н. Севченко» Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь
²Учреждение БГУ «Республиканский центр проблем человека», Минск, Беларусь

В сфере биомедицинских исследований в настоящее время ведутся работы по повышению чувствительности флуоресцентных методов анализа, а также увеличения селективности биораспределения в тканях организма биологически активных веществ, вводимых в составе систем доставки лекарств. В настоящей работе разработан подход к синтезу комплексов флуоресцентных красителей с детонационным наноалмазом, которые могут быть использованы в этой области, изучены их оптические свойства и показана возможность биомедицинского применения.

Детонационные наноалмазы (ДНА) – перспективная основа наноконъюгатов для биомедицинского применения, что обуславливается их высокой биосовместимостью, низкой токсичностью и возможностью в широких пределах модифицировать состав поверхности. Способность частиц с размерами до 100 нм проникать в клетки без проявления цито- и генотоксических эффектов позволяет создавать на основе ДНА наноконъюгаты с биологически активными и лекарственными веществами, а также биомаркерами. Так, особое внимание уделяется разработке люминесцентных зондов – частиц ДНА с привитыми флуоресцентными красителями, используемыми в качестве маркеров на разнообразные биомолекулы. Применение подобных конъюгатов повышает чувствительность анализа и позволяет управлять биораспределением действующего вещества [1].

Для изучения свойств описанных комплексов были синтезированы конъюгаты ДНА со стироловым (рисунок 1, формула K1), полицианиновым (K2) и дицианометиленипираниновым (K3) красителем. Ковалентное связывание молекул красителя (К) с наночастицами алмаза (ДНА) осуществлено посредством гексаметилендиаминового (ГМДА) линкера по схеме на рис.2; массовая доля красителей в образцах комплексов составляет 5%. Порошки ДНА предварительно подвергались термоокислительной обработке с целью монофункционализации и увеличения содержания карбоксильных групп на поверхности наночастиц [2]. Изменение состава порошков в процессе модификации и прививки – окисление поверхности, присоединение молекулы линкера, образование амидной связи с молекулами красителей – подтверждалось методом ИК-спектроскопии. Для исследования оптических свойств наноконъюгатов были приготовлены водные и этанольные суспензии синтезированных образцов с концентрацией золей 1 мг/мл. Спектры поглощения суспензий ДНА-K1 и ДНА-K2 приведены на рисунке 3.

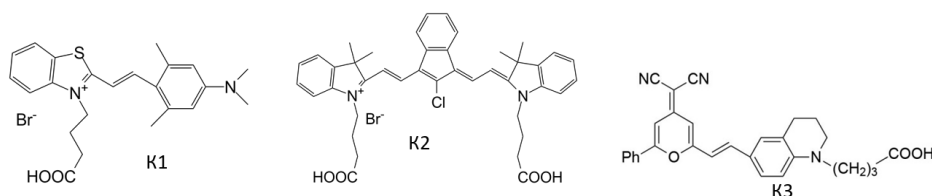


Рисунок 1 – Структурные формулы используемых красителей

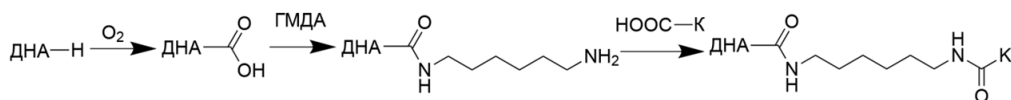


Рисунок 2 – Схема синтеза наноконъюгатов. ДНА – наноалмаз, К – краситель

Спектры всех образцов представляют собой спектры поглощения соответствующего красителя, наложенные на характерный спектр высокодисперсной суспензии ДНА; красители не проявляют сольватохромный эффект, и полосы поглощения всех красителей имеют одинаковое положение как в воде, так в этаноле. У конъюгата ДНА-К1 полоса поглощения красителя находится в области 500–600 нм, а у ДНА-К2 – в области 650–800 нм. Наблюдаемые двойные полосы при 670 и 734 нм в случае ДНА-К2 обусловлены димеризацией красителя из-за возможной агрегации наночастиц комплекса.

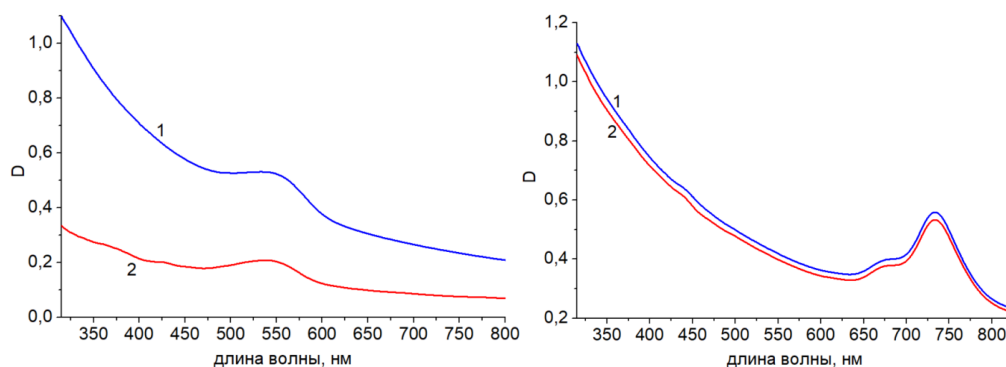


Рисунок 3 – Спектры поглощения наноконкомплексов ДНА-К1 (слева) и ДНА-К2 (справа) в этаноле, зарегистрированные сразу после приготовления (1) и спустя 2 ч (2).

Водные суспензии конъюгата ДНА-К1 обладают высокой седиментационной устойчивостью и не коагулируют в течение нескольких часов. Тем не менее, в этаноле наблюдается существенное убывание оптической плотности со временем в связи с коагуляцией золя. В случае ДНА-К2 как водная, так и спиртовая суспензии характеризуются высокой седиментационной стабильностью. Наблюдаемое различие в устойчивости объясняется, по всей видимости, наличием двух карбоксильных групп в структуре К2, препятствующих агрегации из-за увеличенной сольватации наночастиц и стабилизации слоя противоионов. Этанол, в свою очередь, из-за меньшей, по сравнению с водой, полярности также не способствует седиментационной устойчивости ДНА-К1. Следовательно, для повышения стабильности суспензий требуется увеличение концентрации полярных групп на поверхности наночастиц, что может быть достигнуто дополнительной окислительной обработкой.

Положение полос и форма спектров возбуждения и флуоресценции близки для суспензий наноконкомплексов в этаноле и воде. В спектре флуоресценции ДНА-К1 проявляется полоса при 597 нм, а в спектре возбуждения – соответствующая ей полоса при 517 нм (рисунок 3а). В спектре флуоресценции суспензии наноконкомплексов ДНА-К2 проявляется полоса при 758 нм, а в спектре возбуждения флуоресценции – полоса при 729 нм (Рисунок 3б). Указанные полосы могут быть отнесены к мономерам красителя, ковалентно связанного с поверхностью наночастиц [3]. При этом интенсивность флуоресценции полученных конъюгатов в целом ниже, чем флуоресценция самих красителей.

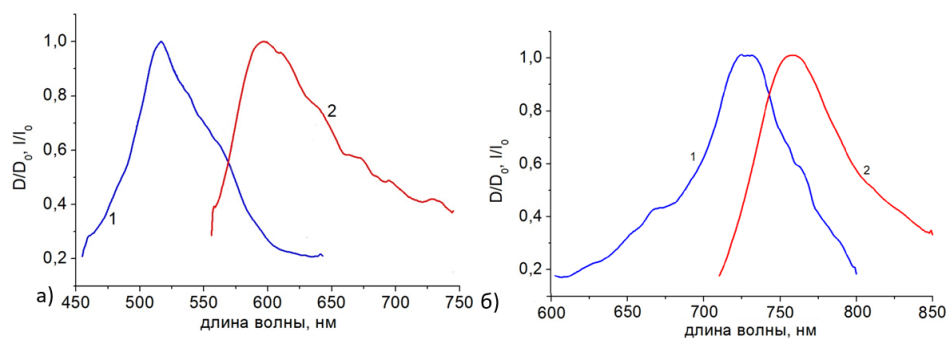


Рисунок 4 – Нормированные спектры возбуждения флуоресценции при регистрации на 660 нм (1) и флуоресценции при возбуждении на 540 нм (2) наноконкомплексов ДНА-К1 (а) и нормированные спектры возбуждения флуоресценции при регистрации на 810 нм (1) и флуоресценции при возбуждении на 700 нм (2) наноконкомплексов ДНА-К2 (б)

Спектр люминесценции комплекса ДНА-КЗ содержит слабую широкую полосу с максимумом 660 нм, характерную для исходного красителя, наложенную на фоновое рэлеевское рассеяние на суспензии ДНА. Наблюдаемое уширение полосы обуславливается, с одной стороны, случайным взаимодействием молекул красителя между собой при агрегации наночастиц. В результате хромофоры оказываются в среде с непостоянной полярностью и поляризуемостью. С другой стороны, из-за гибкости алифатической цепи линкера возможно сближение хромофора с поверхностью наночастицы, что также модулирует диэлектрическую проницаемость среды от 5 (алмаз) до 80 (вода). Этими же причинами объясняется также пониженная интенсивность люминесценции красителей в составе комплексов. Возможное увеличение флуоресценции может быть получено за счет изменения длины углеводородного фрагмента, соединяющего краситель с поверхностью детонационного наноалмаза.

Таким образом, полученные наноконструкции детонационного ультрадисперсного алмаза с молекулами стирилового, цианинового и дицианометиленпиранового красителей, несмотря на низкое содержание собственно флуоресцентной метки, демонстрируют удовлетворительные физико-химические и оптические свойства, пригодные для биомедицинских применений.

Список литературы

1. Chauhan S. Nanodiamonds with powerful ability for drug delivery and biomedical applications: Recent updates on in vivo study and patents / S. Chauhan, N. G. Jain, U. Nagaich // J. Pharm. Anal. – 2020. – Vol. 10, №1. – P. 1-12.

2. Гусаков Г. А., Луговский А. А., Самцов М. П., Пархоменко В. А., Азарко И. И. Процессы окисления ультрадисперсных алмазов детонационного синтеза при обработке на воздухе // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния». Материалы V междунар научно-практической конференции; 16-17 мая 2019 г., Минск, М-во обр. РБ, НИИ ПФП им. А. Н. Севченко БГУ, под ред. В. И. Попечиц – Минск: 2019. С.30-32.

3. Белько Н. В., Самцов М. П., Гусаков Г. А., Луговский А. П., Луговский А. А., Пархоменко В. А., Воропай Е. С. Оптические свойства комплексов ультрадисперсных алмазов детонационного синтеза с индотрикарбоцианиновым красителем // Доклады БГУИР – 2018. – Т. 117, № 7. - С. 101-105.