

УДК: 543.4, 535.372:678

О. Кулинич, студ., Ю. Антонюк, асп.,
В. Старова, канд. хім. наук, М. Янчук, асп.,
О. Запорожець, д-р. хім. наук,
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

ФЛУОРЕСЦЕНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ФОСФОРОВІСНИХ ДЕНДРИМЕРІВ З ТЕРМІНАЛЬНИМИ β -ДИКЕТОНАТНИМИ ГРУПАМИ

Порівнянням інтенсивності флуоресценції фосфоровісних дендримерів з термінальними бензальдегідними, хлорбензеновими і β -дикетонатними групами показано, що покращення флуоресцентних властивостей дендримеру відбувається за рахунок приєднання до його поверхні β -дикетонатних функціональних груп. Серед всіх досліджених дендримерів найвищою флуоресценцією характеризується фосфоровісний дендример з термінальними β -дикетонатними групами четвертої генерації, що обумовлює перспективність його використання як флуоресцентного наномаркера.

Ключові слова: флуоресценція, дендримери, β -дикетони, флуоресцентні наномаркери.

Вступ. Фосфоровісні дендримери на основі гексафункціонального циклофосфазенового ядра характеризуються високофункціональною периферією та майже ідеальною сферичністю форми для генерацій вище третьої. Гідрофобний жорсткий скелет фосфоровісних дендримерів має високу хімічну і термічну стабільність та містить численні наноконтейнери визначених розмірів [1, 2]. Загалом такі особливості будови дендримерів обумовлюють їх здатність формувати комплексні часточки типу "хазяїн-гість" між молекулами дендримеру та органічного субстрату, що забезпечує перспективність їх використання як нанореакторів та нанокапсул для трансмембранного транспорту біологічно-активних речовин [3, 4]. Разом з цим легкість функціоналізації поверхні дендримерів сприяє синтезу принципово нових високомолекулярних сполук з наперед заданими фізико-хімічними властивостями, зокрема високою флуоресценцією та селективністю взаємодії з певними іонами металів для розробки ефективних флуоресцентних зондів, каталізаторів та наномаркерів.

Сьогодні створення нових класів дендримерів, що характеризуються високими флуоресцентними властивостями, є актуальним завданням діагностичної медицини [5]. Серед дендримерів, які знайшли застосування як флуоресцентні маркери при діагностиці онкозахворювань, віділяють такі дендримери, флуоресцентні властивості яких обумовлені наявністю у їх внутрішній будові органічного флуорофору або люмінесцентного металокомплексу; дендримери, що здатні утворювати металексиди типу "хазяїн-гість" з молекулою флуоресцентного індикатора; а також дендримери з периферійними функціональними групами, які мають власні флуоресцентні властивості, або набувають їх внаслідок комплексоутворення з іонами металів [6]. Останній тип люмінесцентних дендримерів вважається найбільш перспективним для створення флуоресцентних наномаркерів та зондів на іони металів [7, 8]. З нашої точки зору функціоналізація поверхні фосфоровісних дендримерів β -дикетонами, які, як відомо, є ефективними комплексоутворюючими лігандами [9], вбачається раціональним шляхом для розробки високочутливих флуоресцентних зондів.

Метою роботи було дослідження флуоресцентних властивостей фосфоровісних дендримерів з термінальними β -дикетонатними групами залежно від їх будови.

Експериментальна частина. Синтез досліджуваних фосфоровісних дендримерів проводили за схемою зазначеною у [10]. Робочі розчини фосфоровісних дендримерів з термінальними β -дикетонатними групами готували розчиненням точної наважки в ацетоні ("Merck", спектроскопічної чистоти). Флуоресцентні властивості дендримерів та їх здатність взаємодіяти з білками вивчали методом флуоресцентної спектроскопії із застосуванням спектрофлуориметра LS55 (Perkin-Elmer, UK). Спектри флуоресценції та збудження ре-

естрували у діапазоні 200-600 нм з урахуванням фону розчинника за оптимальних довжин хвиль збудження та емісії для кожного дендримеру. Кислотність розчинів контролювали скляним електродом ЭСЛ-43-07 (Білорусь) за допомогою рН-метра рН-340.

Робочі розчини овалбуміну готували розчиненням відповідних наважок у воді згідно [11]. Концентрацію білку розраховували в мг/мл (у перерахунок на суху речовину).

Результати та їх обговорення. Для дослідження було обрано сполуки ряду фосфоровісних дендримерів (Gd0 – Gd4), що містять різну кількість 1,3-дикетонатних термінальних груп ($n_{\beta\text{-diketone}}$) та жорстку спряжену систему з різною кількістю N-N-P=S угруповань ($n_{N-N-P=S}$), табл. 1.

На рис. 1а видно, що зі збільшенням генерації інтенсивність флуоресценції (I) дендримерів підвищується. Такий ефект може бути спричинений збільшенням кількості ліпофільних β -дикетонатних груп на поверхні молекули дендримеру. Для підтвердження цього припущення було побудовано залежність співвідношення інтенсивності флуоресценції дендримерів Gd1 – Gd4 до інтенсивності дендримеру з найменшою кількістю β -дикетонатних груп Gd0 (I_{Gd1}/I_{Gd0}) від кількості β -дикетонатних груп у молекулі досліджених дендримерів. З рис. 1b видно, що інтенсивність флуоресценції дендримерів залежить від кількості термінальних β -дикетонатних груп у структурі молекули дендримеру та збільшується приблизно вдвічі із кожною наступною генерацією (n). Однак у випадку дендримерів високої генерації Gd3 та Gd4 спостерігається відхилення від загальної тенденції. Підвищене значення інтенсивності флуоресценції розчинів Gd3 та Gd4 може бути обумовлене різким зростанням жорсткості структури дендримерів та/або початком формування агрегованих часточок дендримеру.

З метою перевірки внеску β -дикетонатних груп у флуоресцентні властивості дендримерів були співставлені спектри емісії дендримерів з бензальдегідними, хлорбензеновими та 1,3-дикетонатними функціональними групами на поверхні їх молекул. З рис. 2 видно, що для фосфоровісного дендримеру з термінальними хлорбензеновими групами (Gcp) спостерігається нелінійна залежність інтенсивності флуоресценції від генерації, а для дендримерів з термінальними бензальдегідними групами (Gc) значення I зменшується із збільшенням n. Примітно, що довжина хвилі, при якій спостерігається максимум у спектрах флуоресценції ($\lambda_{\text{max}}^{\text{em}}$), не змінюється із ростом генерації дендримерів.

Різний вплив термінальних груп на флуоресцентні властивості фосфоровісних дендримерів може бути обумовлений відмінностями у їх ліпофільності. Так показник ліпофільності ($\log P$) зменшується в ряду β -дикетонатні, хлорбензенові та бензальдегідні групи. Примітно, що в такому ж порядку зменшується інтенсивність флуоресценції дендримеру, а також й $\lambda_{\text{max}}^{\text{em}}$ (табл. 2).

Таблиця 1

Досліджені фосфоровмісні дендримери						
Назва	Gd0	Gd1	Gd2	Gd3	Gd4	
Формула						
$N_{\text{diketone}} (\bullet)$		6	12	24	48	96
$N_{\text{N-N-P=S}} (\circ)$		0	6	18	42	90

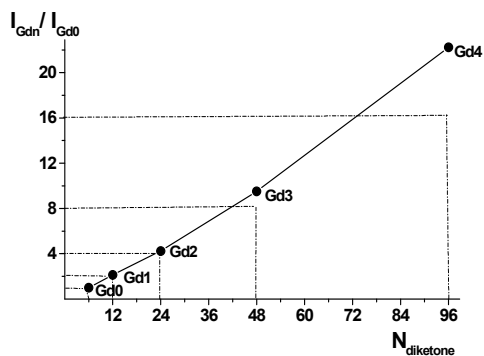
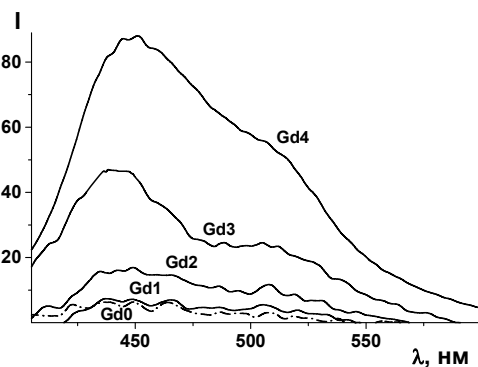


Рис. 1. Зміна інтенсивності флуоресценції ацетонових розчинів дендримерів різної генерації від кількості β-дикетонатних фрагментів в молекулі дендримеру
 $C_{\text{Gd}} = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda^{\text{ex}} = 375 \text{ nm}$, $\lambda^{\text{em}} = 505 \text{ nm}$, розміри кювети, щілин збудження та емісії становили 10, 5 та 20 мм, відповідно.
 I_{Gdn} – інтенсивність флуоресценції дендримерів з 1 по 4 генерацію; I_{Gd0} – інтенсивність флуоресценції дендримеру з найменшою кількістю β-дикетонатних груп Gd0

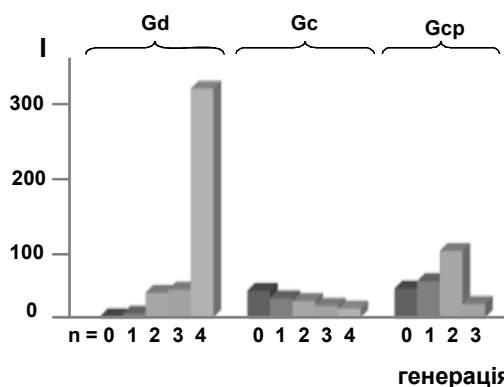


Рис. 2. Інтенсивність флуоресценції фосфоровмісних дендримерів з різними за ліпофільністю термінальними групами залежно від генерації.
 $C = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $\lambda^{\text{ex}} \approx 370 \text{ nm}$, розміри кювети, щілин збудження та емісії становили 10, 5 та 20 мм, відповідно

Таблиця 2

Значення $\lambda^{\text{em}}_{\text{max}}$ фосфоровмісних дендримерів третьої генерації від ліпофільності термінальних груп

Дендример	Функціональна група	IgP	$\lambda^{\text{em}}_{\text{max}}$, нм
Gd3		4,21	440
Gcp3		3,33	432
Gc3		2,10	412

Отже, найбільший квантовий вихід флуоресценції мають дендримери з термінальними β -дикетонатними групами. Із усіх досліджених фосфоровмісних дендримерів саме дендример з термінальними β -дикетонатними групами четвертої генерації характеризується найбільшою інтенсивністю флуоресценції. Такі високі флуоресцентні властивості дендримеру четвертої генерації у поєднанні із високою ліпофільністю термінальних груп можна використати для розробки нових наномаркерів на його основі.

Для перевірки цього твердження було досліджено флуоресценцію Gd 4 у присутності білку овальбуміну. Встановлено, що при концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ М дендример в ацетонному розчині практично не флуоресцює. Люмінесценція овальбуміну характеризується смугою випромінювання з $\lambda_{\text{max}}^{\text{em}} = 457$ нм не високої інтенсивності. При взаємодії білку з Gd4 інтенсивність флуоресценції овальбуміну зростає (рис. 3), що може бути використано при розробці люмінесцентних наномаркерів на основі фосфоровмісних дендримерів з термінальними β -дикетонатними групами.

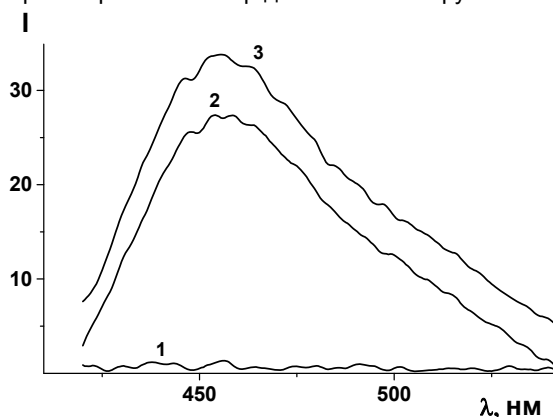


Рис. 3. Спектри флуоресценції ацетонових розчинів дендримеру Gd4 (1), овальбуміну (2) та їх суміші (3)
 $C_{\text{Gd4}} = 1 \cdot 10^{-6}$ М, $C = 0,1$ мг/мл, $\lambda^{\text{ex}} = 400$ нм, $\lambda^{\text{em}} = 457$ нм

О. Кулинич, студ., Ю. Антонюк, асп.,
 В. Старова, канд. хим. наук,
 М. Янчук, асп., О. Запорожец, д-р хим. наук,
 КНУ имени Тараса Шевченко, Киев

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ФОСФОРСОДЕРЖАЩИХ ДЕНДРИМЕРОВ С ТЕРМИНАЛЬНЫМИ β -ДИКЕТОНАТНЫМИ ГРУППАМИ

Сравнением интенсивности флуоресценции фосфорсодержащих дендримеров с терминальными бензальдегидными, хлорбензеновыми и β -дикетонатными группами показано, что улучшение флуоресцентных свойств дендримера происходит за счет присоединения к его поверхности β -дикетонатных функциональных групп. Среди всех исследованных дендримеров наилучшими флуоресцентными свойствами характеризуется фосфорсодержащий дендример с терминальными β -дикетонатными группами четвертой генерации, что обуславливает перспективность его применения в качестве флуоресцентного наномаркера.

Ключевые слова: флуоресценция, дендримеры, β -дикетоны, флуоресцентные наномаркеры.

O. Kulynich, Student, Iu. Antoniuk, PhD-Student,
 V. Starova, PhD, M. Ianchuk, PhD-Student,
 O. Zaporozhets, Professor,
 Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

FLUORESCENT PROPERTIES OF β -DIKETONE PHOSPHORUS-CONTAINING DENDRIMERS

Dendrimers are branched cascade macromolecules that have globular structure with multivalent central nucleus, intermediate branches of the structure and the terminal functional groups on the surface. The features of structure of dendrimers provides the possibility to easily functionalize their surface for elaboration of new specific reagents for selective extraction of metal ions, effective catalytic systems, high sensitive fluorescent probes and luminescent markers. The synthesis of new classes of dendrimers with preassigned physical-chemical properties continues to attract increasing attention. Therefore investigation of fluorescent properties of new phosphorous-containing dendrimers with terminal β -diketones groups seems an actual problem.

It was established, that the β -diketones phosphorous-containing dendrimers are characterized by higher fluorescence in comparison with other dendrimers which have benzaldehyde and chlorobenzene terminal groups. At that the intensity of fluorescence of phosphorous-containing dendrimers with terminal β -diketones groups increases approximately in two times with every next generation. Interesting, that their fluorescent intensity increases as much as the number of terminal β -diketones groups increases. The dendrimers of third and fourth generation are characterized the high fluorescent properties. The increasing of fluorescent properties of protein in the presence of molecules of β -diketones phosphorous-containing dendrimers causes the perspective of such dendrimers application as fluorescent nanomarkers.

Key words: fluorescence, dendrimers, β -diketones, fluorescent nanomarkers.

Таким чином, встановлено, що більш інтенсивною флуоресценцією характеризується фосфоровмісний дендример четвертої генерації з термінальними β -дикетонатними групами. Високі флуоресцентні властивості фосфоровмісних дендримерів з термінальними β -дикетонатними групами, а також здатність взаємодіяти з білками, обумовлюють можливість використання таких дендримерів як ефективних флуоресцентних маркерів при розробці нових діагностичних систем.

Список використаних джерел

1. Majoral J.-P. Dendrimers containing heteroatoms (Si, P, B, Ge, or Bi) / Majoral J.-P., Caminade A.-M. // Chem. Rev. – 1999. – Vol. 99, № 3. – P. 845–880.
2. Launay N. Synthesis and Reactivity of Unusual Phosphorus Dendrimers – A Useful Divergent Growth Approach Up to the 7th Generation / Launay N., Caminade A.-M., Majoral J.-P. // J. Am. Chem. Soc. – 1995. – Vol. 117, № 11. – P. 3282–3283.
3. Luminescence as a tool to investigate dendrimer properties / Ceroni P., Bergamini G., Marchioni F., Balzani V. // Prog. Polym. Sci. – 2005. – Vol. 30, № 3–4. – P. 453–473.
4. Stiriba S.-E. Dendritic Polymers in Biomedical Applications: From Potential to Clinical Use in Diagnostics and Therapy / Stiriba S.-E., Frey H., Haag R. // Angew. Chem. Int. Ed. – 2002. – Vol. 41, № 8. – P. 1329–1335.
5. Пул Ч. Нанотехнологии. Издание 2 / Пул Ч., Оуэнс Ф. – Техноспера, 2006.
6. Luminescent Lanthanide Ions Hosted in a Polylysine Dendrimer / Balzani V., Ceroni P., Juris A., Venturi M. Campagna S. // J. Am. Chem. Soc. – 2002, Vol. 124 (22). – P. 6461–6468.
7. Dendrimers based on a bis-cyclam core as fluorescence sensors for metal ions / Bergamini G., Ceroni P., Balzani V., Cornelissen L., et al. // J. Mater. Chem. – 2005. – Vol. 15. – P. 2959–2964.
8. Synthesis of fluorescent dendritic 8-hydroxyquinoline ligands and investigation on their coordinated Zn(II) complexes / Shen L., Li F., Sha Y., Hong X., Huang C. // Tetrahedron Lett. – 2004. – Vol. 45, № 20. – P. 3961–3964.
9. Пешкова В.М. β -Дикетоны / Пешкова В.М., Мельчакова Н.В. – М.: Наука, 1986. – 200 с.
10. Synthesis of Dendritic β -Diketones and Their Application in Copper-Catalyzed Diaryl Ether Formation / Keller M., Ianchuk M., Ladeira S., Caminade A.-M., Majoral J.-P. et al. // Eur. J. Org. Chem. – 2012. – № 5. – P. 1056–1062.
11. Практикум по биохимии: учебное пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: Из-во МГУ, 1989. – 509 с.

Надійшла до редколегії 27.06.14