



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών  
—ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837—

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ»**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**Σύνθεση και χαρακτηρισμός pH/θερμο- ευαίσθητων  
πολυμερικών νανοδοχείων εμπλουτισμένων με κβαντικές  
τελείες για εφαρμογές διαγνωσοθεραπείας**

**ΑΘΗΝΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ  
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ**

**ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2020**



**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

Σύνθεση και χαρακτηρισμός pH/θερμο- ευαίσθητων πολυμερικών  
νανοδοχείων εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες για εφαρμογές  
διαγνωσσοθεραπείας

**ΑΘΗΝΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ**

**A.M.:** 181802

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

Ευθυμιάδου Ελένη, Επίκουρος Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. Ευθυμιάδου Ελένη, Επίκουρος Καθηγήτρια ΕΚΠΑ
2. Χριστιάνα Μητσοπούλου, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ
3. Παπαευσταθίου Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΚΠΑ

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 18/02/2020**



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σήμερα, στον τομέα της νανοϊατρικής, τα νανοϋλικά χρησιμοποιούνται ευρέως ως φορείς για θεραπαστικές εφαρμογές. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης πολυμερών στη νανοϊατρική περιλαμβάνουν βιοσυμβατότητα, δομική ευκαμψία, χαμηλή τοξικότητα και χαμηλό κόστος.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, εστιάζουμε στη στρατηγική δύο σταδίων: 1. αρχικά παρασκευάζονται πολυμερικές νανοσφαίρες και 2. τροποποιούνται με ημιαγώγιμες κβαντικές τελείες (QDs). Αυτό το υβριδικό νανοϋλικό αναμένεται να βρει χρήση σε μια ποικιλία *in vitro* και *in vivo* βιολογικών εφαρμογών. Με την ευκολία να παρέχουν ταυτόχρονη θεραπεία και απεικόνιση υπό ελεγχόμενη μεταφορά, τα πολυμερικά νανοσωματίδια έχουν μεγάλες δυνατότητες στη βιοϊατρική έρευνα και εφαρμογές. Αυτή η εργασία περιγράφει τη σύνθεση pH/θερμο-ευαίσθητων, πολυμερικών νανοδοχείων τροποποιημένων με κβαντικές τελείες, οι οποίες έχουν σημαντικές ιδιότητες, για ενθυλάκωση φαρμάκου και απελευθέρωση στα κύτταρα-στόχους. Συγκεκριμένα, το υβριδικό νανοσωματίδιο θα συντεθεί σε διαδικασία δύο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο, οι νανοσφαίρες αναπτύσσονται με τη χρήση ριζικού πολυμερισμού γαλακτώματος και στο δεύτερο στάδιο θα γίνεται η τροποποίηση με τις κβαντικές τελείες.

Η μελέτη της κολλοειδούς συμπεριφοράς, ο δομικός και ο μορφολογικός χαρακτηρισμός των υβριδικών νανοσωματιδίων πραγματοποιήθηκε με DLS, FT-IR, UV/Vis, PL, SEM και TEM. Επιπλέον, η αιμόλυση και η μελάτη της κυτταροτοξικότητας μέσω της μεθόδου MTT, αξιολογήθηκαν προκειμένου να εκτιμηθεί η βιοσυμβατότητα τους. Η μικροσκοπία φθορισμού χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της πρόσληψης των υβριδικών νανοσφαιρών και τον εντοπισμό τους σε διαφορετικές κυτταρικές καλλιέργειες [1-3].

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Νανοτεχνολογία

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** θεραπαστικές εφαρμογές, βιοϊατρική, νανοσφαίρες, κβαντικές τελείες, υβριδικό νανοϋλικό



## ABSTRACT

Nowadays, in nanomedicine field, nanomaterials are widely used as carriers for theranostic applications. The advantages of using polymers in nanomedicine include biocompatibility, structural flexibility, low toxicity, and low cost.

In this work, we focus on a two steps strategy: During the first step polymeric nanospheres were developed and in the second step nanospheres were decorated with semiconductor quantum dots (QDs) resulting a hybrid nanocontainer. This hybrid nanomaterial is expected to be applied in a variety of *in vitro* and *in vivo* biological applications. Based on their ability to provide simultaneous therapy and diagnosis under controlled conditions our systems have great potentials in biomedical research and applications. This work describes the synthesis of hollow pH/thermo-sensitive polymer nanospheres (NS) modified with QDs, which have the desired properties, for monitoring, drug loading and release to the targeted pathological area. In detail, the hybrid NS have been synthesized in two steps procedure. In the first step, NS developed by using radical emulsion polymerization and in the second step doping with QDs will be taken place creating simultaneously an inner cavity.

NS have been evaluated structural and morphological by FT-IR, UV/Vis, PL, SEM and TEM respectively. Their colloidal stability was also investigating by DLS. Furthermore, the resulted NS@QDs have been evaluated biological. Hemolysis on Red blood cells and cytotoxicity via MTT assay, have been assessed in order to evaluate their biocompatibility. Fluorescent microscopy will be used to investigate the hybrid NS@QDs uptake and localization in different cell cultures [1-3].

**SUBJECT AREA:** Nanotechnology

**KEYWORDS:** theranostic applications, nanomedicine, nanospheres, quantum dots, hybrid nanomaterial





*Στην οικογένεια μου και σε όσους ανθρώπους με στήριξαν...*



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας τη συγγραφή της παρούσας διπλωματικής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν να την πραγματοποιήσω.

Αρχικά, ευχαριστώ θερμά την Επίκουρο καθηγήτρια Ευθυμιάδου Ελένη, που χωρίς την καθοδήγηση, την ουσιαστική βοήθεια της, καθώς και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε, δεν θα ήταν δυνατή η εκπόνηση της εργασίας. Η στήριξη της ήταν πολύτιμη, όλο αυτό το διάστημα κατά την περίοδο διεξαγωγής των πειραμάτων, αλλά και κατά τη συγγραφή αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην Καθηγήτρια Χριστίνα-Άννα Μητσοπούλου, Καθηγήτρια Ανόργανης Χημείας, του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, καθώς και στον Αναπληρωτή Καθηγητή του τομέα της Ανόργανης Χημείας του Τμήματος Χημείας Παπαευσταθίου Ιωάννη, που δέχτηκαν να είναι στην εξεταστική επιτροπή.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κ. Γ. Μήτρικα, τον κ. Η. Σακέλλη, καθώς και τον κ. Β. Ψυχάρη για την συνεργασία στα πλαίσια χαρακτηρισμών που πραγματοποιήθηκαν στα εργαστήρια τους.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της ομάδας του εργαστηρίου, Μαρία Θεοδοσίου, Δανάη Προκοπίου, Δώρα Κουτσίκου και Αναστασία Σταυροπούλου για την πολύτιμη βοήθειά τους.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου, η οποία με βοήθησε και με στήριξε στο να πραγματοποιήσω τον στόχο μου.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b> .....	<b>13</b>
<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	<b>23</b>
<b>1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Νανοτεχνολογία</b> .....	<b>27</b>
1.1 <i>Ιστορική αναδρομή</i> .....	27
1.2 <i>Ορισμός της Νανοτεχνολογίας</i> .....	29
1.3 <i>Κατηγορίες και σύνθεση νανοϋλικών</i> .....	30
1.4 <i>Εφαρμογές</i> .....	33
1.4.1 <i>Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στη βιολογία</i> .....	33
1.4.2 <i>Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στη νανοϊατρική</i> .....	34
<b>2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Κβαντικές τελείες</b> .....	<b>37</b>
2.1 <i>Τι είναι οι κβαντικές τελείες;</i> .....	37
2.2 <i>Θεωρία ενεργειακών ζωνών</i> .....	39
2.3 <i>Κβαντικός περιορισμός</i> .....	39
2.4 <i>Εμπλουτισμός κβαντικών τελειών</i> .....	42
2.5 <i>Δημιουργία κράματος κβαντικών τελειών</i> .....	42
2.6 <i>Δομή επιφάνειας</i> .....	43
2.6.1 <i>Αδρανοποίηση επιφάνειας</i> .....	43
2.7 <i>Εκπομπή φθορισμού</i> .....	46
2.8 <i>Εφαρμογές κβαντικών τελειών</i> .....	47
2.9 <i>Τρόποι παρασκευής κβαντικών τελειών</i> .....	51
<b>3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Αλληλεπίδραση νανοσωματιδίων με βιολογικά συστήματα</b> .....	<b>55</b>
3.1 <i>Συστήματα μεταφοράς φαρμάκων</i> .....	55
3.1.1 <i>pH ευαίσθητα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων</i> .....	56
3.2 <i>Στρατηγικές στόχευσης</i> .....	57
3.2.1 <i>Μηχανισμοί ενεργητικής διέλευσης των κυτταρικών μεμβρανών</i> .....	58
3.2.2 <i>Μηχανισμοί παθητικής διέλευσης των κυτταρικών μεμβρανών</i> .....	59
3.3 <i>Πολυμερή</i> .....	60

3.4 Πολυμερισμός .....	61
3.4.1 Σταδιακός πολυμερισμός .....	61
3.4.2 Αλυσωτός πολυμερισμός .....	62
<b>ΣΚΟΠΟΣ.....</b>	<b>65</b>
<b>4. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Τεχνικές χαρακτηρισμού και υλικά.....</b>	<b>69</b>
4.1 Δομή, μορφολογία και ιδιότητες των νανοσωματιδίων.....	69
4.1.1 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) .....	69
4.1.2 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis) .....	71
4.1.3 Φασματοσκοπία φωτοφωταύγειας (PL).....	72
4.1.4 Περίθλαση Ακτίνων-Χ (X-Ray Diffraction, XRD).....	73
4.1.5 Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS) .....	75
4.1.6 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM).....	76
4.1.7 Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM) .....	78
4.2 Μέθοδοι Βιολογικής αξιολόγησης .....	80
4.2.1 Κυτταρικές καλλιέργειες .....	80
4.2.2 Μελέτη αιμοσυμβατότητας των νανοσωματιδίων .....	81
4.2.3 Μελέτη της βιωσιμότητας των κυττάρων με τη μέθοδο MTT .....	82
4.3 Αντιδραστήρια πειραμάτων.....	85
<b>5. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Σύνθεση πολυμερικών νανοδοχείων εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες ...</b>	<b>87</b>
5.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός κβαντικών τελειών .....	87
5.1.1 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO@Ολεϊκού οξέος (AP_09) .....	87
5.1.2 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO (AP_10) .....	88
5.1.3 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO (AP_13) .....	88
5.1.4 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnSe (AP_24).....	88
5.1.5 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS (AP_36).....	89
5.1.6 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS (AP_39).....	89
5.1.7 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS (AP_40).....	90
5.1.8 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Mn (AP_41).....	90
5.1.9 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Mn (AP_42).....	91
5.1.10 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Mn (AP_47) .....	91
5.1.11 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Cd (AP_48).....	92
5.2 Σύνθεση πολυμερικών νανοσφαιρών .....	93
5.2.1 Σύνθεση νανοσφαιρών πολύ-μεθυλ-μεθακρυλικού εστέρα P(MMA) (AP_04) .....	93
5.2.2 Σύνθεση του pH ευαίσθητου κελύφους με διασταυρούμενη σύνδεση P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA) (AP_05).....	94

5.2.3	Εκδίωξη του πυρήνα από τις σφαίρες P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA) (AP_12).....	94
5.2.4	Τροποποίηση της επιφάνειας των σφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO (AP_18).....	95
5.2.5	Τροποποίηση της επιφάνειας των σφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO@OA (AP_19).....	95
5.2.6	Σύνθεση νανοσφαιρών πολύ-μεθακρυλικού οξέος P(MAA) (AP_31).....	95
5.2.7	Σύνθεση του pH/θέρμο-ευαίσθητου κελύφους με διασταυρούμενη σύνδεση P(MAA-co-MAA-co-NIPAAm-co-MBA) (AP_31).....	96
5.2.8	Σύνθεση τροποποιημένων νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe (AP_34).....	97
5.2.9	Εκδίωξη πυρήνα από τις νανοσφαίρες P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe (AP_44).....	98
5.2.10	Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnO (AP_50).....	98
5.2.11	Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnS (AP_52).....	98
5.2.12	Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnS:Mn (AP_49).....	99
5.2.13	Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnS:Cd (AP_51).....	99
5.3	Εγκλωβισμός αντιμικροβιακού φαρμάκου ( <i>Levofloxacin</i> ) στα τροποποιημένα νανοδοχεία .....	100
<b>6.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Αποτελέσματα- Συζήτηση .....</b>	<b>103</b>
6.1	Δομικός χαρακτηρισμός με FT-IR.....	103
6.1.1	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA).....	103
6.1.2	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm), P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA) και P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe .....	104
6.2	Χαρακτηρισμός με Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS) .....	106
6.2.1	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA).....	106
6.2.2	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) (AP_31).....	108
6.2.3	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe .....	109
6.2.4	Κβαντικές τελείες ZnSe .....	110
6.2.5	Κβαντικές τελείες ZnO.....	111
6.2.6	Κβαντικές τελείες ZnS.....	112
6.2.7	Κβαντικές τελείες ZnS:Cd .....	112
6.3	Μορφολογικός χαρακτηρισμός μέσω Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM).....	113
6.3.1	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA).....	113
6.3.2	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO .....	114

6.3.3	Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA)@ZnSe, P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm)@ZnSe, P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe .....	115
6.3.4	Μορφολογικός χαρακτηρισμός πολυμερικών νανοδοχείων μέσω Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM).....	116
6.3.5	Στοιχειακή ανάλυση των κβαντικών τελειών μέσω του Ανιχνευτή Ενεργειακής Διασποράς Ακτίνων Χ (Energy Dispersive X-Ray, EDAX) .....	118
6.4	Χαρακτηρισμός με Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis) .....	119
6.5	Χαρακτηρισμός με Φασματοσκοπία Φωτοφωταύγειας.....	122
6.6	Φωτογραφίες από Μικροσκοπία φθορισμού .....	126
6.7	Χαρακτηρισμός με Περίθλαση Ακτίνων-Χ (X-Ray Diffraction, XRD).....	127
6.8	Βιολογική αξιολόγηση .....	129
6.8.1	Αποτελέσματα αιμοσυμβατότητας .....	129
6.8.2	Αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας (MTT).....	134
<b>7.</b>	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 Συμπεράσματα .....</b>	<b>137</b>
<b>8.</b>	<b>Πίνακας Ορολογίας .....</b>	<b>139</b>
<b>9.</b>	<b>Συντμήσεις – Αρκτικόλεξα – Ακρωνύμια.....</b>	<b>140</b>
<b>10.</b>	<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>141</b>



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.2.1: Κλίμακα μεγέθους νανοσωματιδίων και βιομορίων [7].....	30
Εικόνα 2.1.1: Αντιπροσωπευτικά υλικά κβαντικών τελειών στο φάσμα εκπομπής τους [17] .....	38
Εικόνα 2.1.2: Κβαντική τελεία Τύπου I και Τύπου II [20].....	38
Εικόνα 2.3.1: Το ενεργειακό χάσμα αυξάνεται με τη μείωση του μεγέθους των κβαντικών τελειών [3].....	41
Εικόνα 2.7.1: (a) Φάσμα εκπομπής κβαντικών τελειών, (b) απεικόνιση του ελέγχου του μεγέθους των κβαντικών τελειών και της δημιουργίας του εξιτονίου [37] .....	47
Εικόνα 2.8.1: Βιοϊατρικές εφαρμογές κβαντικών τελειών [3]. .....	48
Εικόνα 2.8.2: Βαμμένα κύτταρα με διάφορους ανιχνευτές κβαντικών τελειών-αντισωμάτων [38]. .....	49
Εικόνα 3.4.1: Σχηματική απεικόνιση σταδιακού πολυμερισμού [54].....	62
Εικόνα 4.1.1: Δονήσεις τάσης και κάμψης των μοριακών δομών στην υπέρυθη ακτινοβολία [55]......	70
Εικόνα 4.1.2: Σχηματική αναπαράσταση ενός φασματοφωτόμετρου UV-Vis [56]. .....	72
Εικόνα 4.1.3: Σχηματική αναπαράσταση του νόμου Bragg [58]......	75
Εικόνα 4.1.4: Σχηματική αναπαράσταση SEM [60]......	78
Εικόνα 4.1.5: Σχηματική απεικόνιση TEM [60].....	80
Εικόνα 5.3.1: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς του Levofloxacin. ....	101
Εικόνα 5.3.2: Χημική δομή του Levofloxacin. ....	102
Σχήμα 6.1.1: Διάγραμμα FT-IR των νανοδοχείων P(MAA-co-MBA), των τροποποιημένων νανοσφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA) και των νανοσφαιρών P(MAA). .....	103
Σχήμα 6.1.2: Διάγραμμα FT-IR των νανοσφαιρών P(MAA), PMAA@P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) και νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm). .....	105
Σχήμα 6.1.3: Διάγραμμα FT-IR των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) και P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA) παρουσία κβαντικών τελειών ZnSe. ....	106
Εικόνα 6.2.1: Διαγράμματα μεγέθους (DLS) των σφαιρών P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA). .....	107
Εικόνα 6.2.2: Διαγράμματα ζ-δυναμικού (DLS) των σφαιρών P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA). ..	107
Εικόνα 6.2.3: Διαγράμματα μεγέθους και ζ δυναμικού (DLS) των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm). .....	108
Εικόνα 6.2.4: Διαγράμματα μεγέθους και ζ-δυναμικού (DLS) των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-EGMA)@ZnSe. ....	109
Εικόνα 6.2.5: Διαγράμματα ζ-δυναμικού και μεγέθους (DLS) των κβαντικών τελειών ZnSe. ....	110

Εικόνα 6.2.6: Διαγράμματα μεγέθους και ζ-δυναμικού (DLS) των κβαντικών τελειών ZnO/KOH.....	111
Εικόνα 6.2.7: Διαγράμματα μεγέθους (DLS) των κβαντικών τελειών ZnS. ....	112
Εικόνα 6.2.8: Διαγράμματα μεγέθους και ζ-δυναμικού (DLS) των κβαντικών τελειών ZnS:Cd. ....	113
Εικόνα 6.3.1: SEM πολυμερικών νανοσφαιρών A) PMMA και B) P(MMA-co-MAA-co-MBA). ....	114
Εικόνα 6.3.2: SEM πολυμερικών νανοσφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO. ....	115
Εικόνα 6.3.3: SEM πολυμερικών σφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO και P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO@Oleic Acid. ....	115
Εικόνα 6.3.4: SEM νανοσφαιρών A) P(MAA-co-MBA)@ZnSe, B) P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm)@ZnSe, C) P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe. ....	116
Εικόνα 6.3.5: SEM πολυμερικών νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EMGA)@ZnSe@ZnS:Mn. ....	117
Εικόνα 6.3.6: SEM πολυμερικών νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EMGA)@ZnSe@ZnS. ....	117
Εικόνα 6.3.7: Φάσμα ακτίνων X (EDAX) για την ποιοτική ανάλυση των κβαντικών τελειών A. ZnS, B. ZnS:Mn και C. ZnS:Cd. ....	118
Εικόνα 6.3.8: Φάσμα ακτίνων X (EDAX) για την ποιοτική ανάλυση των ZnO@OA και ZnSe κβαντικών τελειών. ....	119
Εικόνα 6.4.1: Φάσματα UV-Vis των κβαντικών τελειών A. ZnO/KOH, B. ZnO@OA και C. ZnSe. ....	120
Εικόνα 6.4.2: Συγκριτικό φάσμα UV-Vis των κβαντικών τελειών ZnS, ZnS:Mn, ZnS:Cd.....	121
Εικόνα 6.5.1: Φάσματα απορρόφησης και εκπομπής των κβαντικών τελειών A. ZnO/KOH B. ZnO/OA και C. ZnSe.....	123
Εικόνα 6.5.2: Φάσματα απορρόφησης και εκπομπής των κβαντικών τελειών A. ZnS, B. ZnS:Mn και C. ZnS:Cd.....	124
Εικόνα 6.5.3: Συγκριτικό φάσμα εκπομπής φωτοφωταύγειας κβαντικών τελειών ZnS, ZnS:Mn και ZnS:Cd. ....	125
Εικόνα 6.6.1:Φωτογραφίες μικροσκοπίου φθορισμού για A:MCF-7 Control χωρίς φθορισμό, B:core-shell P(MAA)@ZnS σε MCF-7 χωρίς φθορισμό, C:core-shell P(MAA)@ZnS:Cd χωρίς φθορισμό, D:MCF-7 Control, E:core-shell P(MAA)@ZnS σε MCF-7 με φθορισμό και F:core-shell P(MAA)@ZnS:Cd με φθορισμό. ....	127
Εικόνα 6.6.2: Φωτογραφίες μικροσκοπίου φθορισμού για core-shell P(MAA)@ZnO σε MCF-7, αριστερά χωρίς φθορισμό και δεξιά με φθορισμό.....	127
Εικόνα 6.6.3: Φωτογραφίες μικροσκοπίου φθορισμού για τις κβαντικές τελείες A:ZnSe, B:ZnS, C:ZnS/GSH, D:ZnS:Mn.....	127

Εικόνα 6.7.1: Γράφημα XRD των κβαντικών τελειών ZnO [76].	129
Εικόνα 6.8.1: Διάγραμμα αιμόλυσης στις 2 ώρες για τις συγκεντρώσεις (μg/ml) 100:3,2 % αιμόλυση, 50:2,7 % αιμόλυση και 10:4,5 % αιμόλυση.	130
Εικόνα 6.8.2: Διάγραμμα αιμόλυσης στις 24 ώρες για τις συγκεντρώσεις (μg/ml) 100:13 % αιμόλυση, 50:11,1 % αιμόλυση και 10:6,3 % αιμόλυση.	130
Εικόνα 6.8.3: Διάγραμμα αιμόλυσης στις 24 ώρες για τις συγκεντρώσεις 100, 50 και 10 (μg/ml).	132
Εικόνα 6.8.4: Φωτογραφίες αιμόλυσης μετά από 24 ώρες.	133
Εικόνα 6.8.5: Διάγραμμα MTT σε κύτταρα NCTC παρουσία πολυμερικών νανοδοχείων, εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες, για τις συγκεντρώσεις 30, 10, 5, 1, 0,1 (μg/ml).	134
Εικόνα 6.8.6: Διάγραμμα MTT σε κύτταρα MCF-7 παρουσία πολυμερικών νανοδοχείων, εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες, για τις συγκεντρώσεις 30, 10, 5, 1, 0,1 (μg/ml).	135



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 5.1.1: Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στις συνθέσεις των κβαντικών τελειών. ....	93
Πίνακας 6.2.1: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	108
Πίνακας 6.2.2: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	109
Πίνακας 6.2.3: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	110
Πίνακας 6.2.4: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	111
Πίνακας 6.2.5: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	111
Πίνακας 6.2.6: Αποτελέσματα από διάγραμμα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	112
Πίνακας 6.2.7: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS). ....	113
Πίνακας 6.4.1: Πίνακας των $\lambda_{max}$ και της Ενέργειας απορρόφησης των κβαντικών τελειών. ....	121
Πίνακας 6.5.1: Πίνακας των $\lambda_{max}$ , της Ενέργειας εκπομπής των κβαντικών τελειών και τις μετατοπίσεις κατά Stokes. ....	125
Πίνακας 6.7.1: Πίνακας των δεδομένων υπολογισμού της διαμέτρου των κβαντικών τελειών. ....	128
Πίνακας 6.8.1: Αποτελέσματα αιμόλυσης των νανοσωματιδίων στις 2 ώρες. ....	131
Πίνακας 6.8.2: Αποτελέσματα αιμόλυσης των νανοσωματιδίων στις 24 ώρες. ....	131
Πίνακας 6.8.3: Αποτελέσματα αιμόλυσης των νανοσωματιδίων στις 24 ώρες. ....	132
Πίνακας 6.8.1.1: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων. ....	139



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε σε συνεργασία του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών του Τομέα Ανόργανης Χημείας και του Ινστιτούτου Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος» με επιστημονική υπεύθυνη την Επίκουρο Καθηγήτρια Ελένη Ευθυμιάδου του οποίου είναι επίσης επιστημονικός συνεργάτης. Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο του Τομέα Ανόργανης Χημείας, καθώς και στο εργαστήριο «Sol-Gel» του οποίου προΐσταται ο Δρ. Γεώργιος Μήτρικας.





## **A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## Νανοτεχνολογία

### 1.1 Ιστορική αναδρομή

Οι άνθρωποι, από πολύ παλιά έρχονταν σε επαφή, στην καθημερινότητα τους με διάφορα αντικείμενα νανομεγέθους και με σχετικές διεργασίες. Ωστόσο, η νανοτεχνολογία αναπτύχθηκε αυθόρμητα, χωρίς την κατανόηση της φύσης αυτών των αντικειμένων και των διεργασιών. Σε πολλές περιπτώσεις τα μυστικά της αρχαίας νανοπαραγωγής περνούσαν απλά από γενιά σε γενιά, χωρίς να γίνονται κατανοητοί οι λόγοι για τους οποίους τα λαμβανόμενα υλικά και τα προϊόντα που προέρχονται από αυτά απέκτησαν τις μοναδικές τους ιδιότητες. Χιλιάδες χρόνια π.Χ. οι άνθρωποι γνώριζαν και χρησιμοποιούσαν φυσικά υφάσματα: λινάρι, βαμβάκι, μαλλί, μετάξι. Αυτό που κάνει ξεχωριστά αυτά τα υφάσματα είναι ότι αποτελούνται από ένα αναπτυγμένο δίκτυο πόρων μεγέθους 1-20 νανόμετρα (nm) που τους επιτρέπει να έχουν πολλές χρηστικές ιδιότητες. Στην Αρχαία Αίγυπτο, οι βαφές μαλλιών σε μαύρο χρώμα αποκαλύπτουν επίσης τα παραπάνω. Σύμφωνα με έρευνες σε δείγματα τρίχας, από τόπους ταφής, τα μαλλιά βάφονταν με μαύρο χρώμα από πάστα ασβέστη, οξειδίο του μολύβδου και λίγο νερό. Οι Αιγύπτιοι ήταν σε θέση να κάνουν την πάστα βαφής να αντιδράσει με το θείο, το οποίο αποτελεί μέρος της κερατίνης των μαλλιών και να λαμβάνουν σωματίδια γαληνίτη μεγέθους μερικών νανομέτρων, τα οποία παρέχουν ομοιόμορφη και σταθερή βαφή. Ένα άλλο, ξεχωριστό παράδειγμα, αποτελεί το κύπελλο του Λυκούργου (Licurg), ένα προϊόν των κατασκευαστών γυαλιού της Αρχαίας Ρώμης, το οποίο εκτίθεται στο Βρετανικό μουσείο. Αυτό το κύπελλο έχει ασυνήθιστες οπτικές ιδιότητες: αλλάζει χρώμα με αλλαγή της θέσης της πηγής του φωτός. Οι επιστήμονες ανακάλυψαν σωματίδια χρυσού και ασημιού από 50 έως 100 νανόμετρα, χρησιμοποιώντας ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και ένα ραδιογράφο. Το φαινόμενο του κυπέλλου εξηγήθηκε από τις επιδράσεις της διέγερσης των πλασμονίων από ηλεκτρόνια με μεταλλικά νανοσωματίδια.

Για τη νανοτεχνολογία η αρχή έγινε με την ομιλία του διάσημου φυσικού Feynman τον Δεκέμβριο του 1959 στο ετήσιο συνέδριο της American Physical Society στο Caltech, όπου ακούστηκε για πρώτη φορά το γνωστό "**There's Plenty of Room at the Bottom**". Ο Feynman διατυπώνοντας τη συγκεκριμένη έκφραση εννοούσε ότι υπάρχουν ανεξερεύνητοι ορίζοντες στις micro και nano διαστάσεις. Πιο συγκεκριμένα, θεωρούσε ότι υπάρχει η δυνατότητα χειραγώγησης σωματιδίων (ατόμων) και μάλιστα με εμπλουτισμένα χαρακτηριστικά σε σχέση με αυτά που γνώριζαν τότε. Ουσιαστικά, με αυτήν τη διάλεξη του θα προκαλέσει μεταγενέστερα την αναγκαστική ανάπτυξη της χημείας και την εγκαθίδρυση της ως θεμέλιο λίθο για τη νανοτεχνολογία. Παρόλα αυτά, πέρασαν αρκετά χρόνια μέχρι να τεθεί σε εφαρμογή η σκέψη του Feynman. Ο όρος νανοτεχνολογία πρώτη φορά αναφέρθηκε το 1974 από τον Norio Taniguchi, ενός ερευνητή του Πανεπιστημίου του Τόκυο, για να αναφερθεί στον μηχανικό έλεγχο υλικών στο επίπεδο νανομέτρου. Η ανάγκη για σμίκρυνση της κλίμακας προήλθε από τη βιομηχανία ηλεκτρονικών ειδών που στόχευε στην ανάπτυξη εργαλείων για τη δημιουργία μικρότερων ηλεκτρονικών συσκευών.

Το 1979, ο Eric Drexler έθεσε σε δράση τις ιδέες του Feynman διευρύνοντας το όραμα του για τη μοριακή κατασκευή σύμφωνα με τις εξελίξεις στην κατανόηση λειτουργίας των πρωτεϊνών. Ο πρωταρχικός του στόχος ήταν να βασιστεί στη θεμελιώδη ιδέα του φυσικού, με αποτέλεσμα τη δημιουργία του πεδίου της νανοτεχνολογίας, πριν ακόμη ολοκληρωθεί ο όρος «Νανοτεχνολογία». Το 1981, ο Drexler δημοσίευσε το πρώτο άρθρο του σχετικά με το θέμα στο περίφημο επιστημονικό περιοδικό, Proceedings of the National Academy of Sciences με τίτλο: "Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation", επεκτείνοντας ουσιαστικά την ιδέα του Feynman.

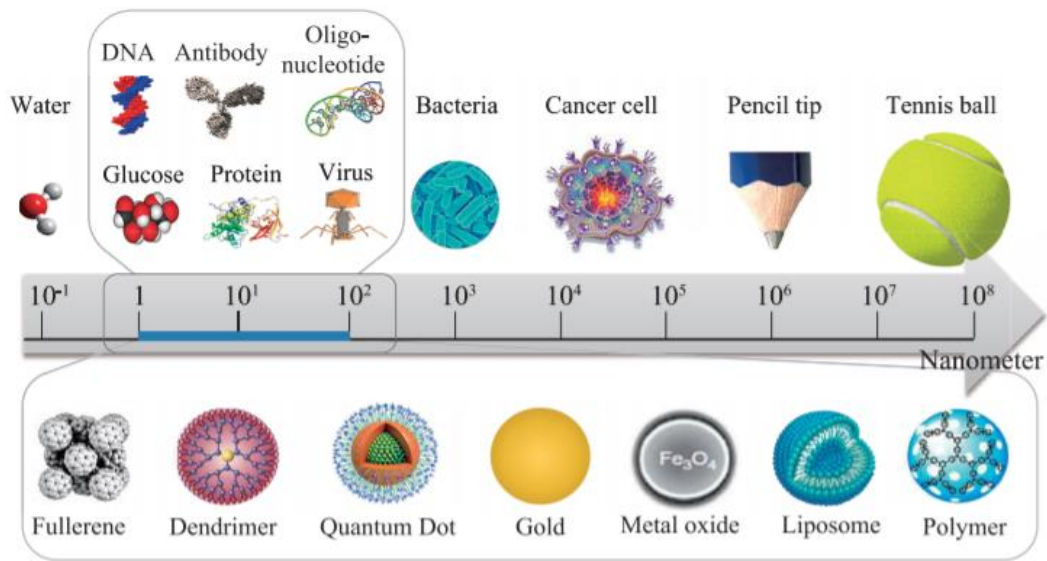
Η νανοτεχνολογία μπόρεσε να αναπτυχθεί μέσω επιστημονικών μεθόδων έπειτα από δύο σημαντικά επιτεύγματα. Το πρώτο ήταν η επινόηση του Scanning Tunneling Microscope (STM) από τους Binnig και Rohrer το 1981. Με αυτή την τεχνολογία, μεμονωμένα άτομα θα μπορούσαν να ταυτοποιηθούν για

πρώτη φορά. Το άλλο επίτευγμα ήταν η εφεύρεση της Μικροσκοπίας ατομικής δύναμης (AFM), το 1986. Αυτό το μικροσκόπιο θα μπορούσε να απεικονίσει μη αγώγιμα υλικά, όπως οργανικά μόρια. Ενώ, η νανοτεχνολογία δημιουργήθηκε μέσω του οράματος του Feynman και στη συνέχεια του Drexler για τη μοριακή κατασκευή, το πεδίο της αναπτύχθηκε στον 21ο αιώνα για να συμπεριλάβει την έρευνα στον τομέα της χημείας και της επιστήμης των υλικών, καθώς και της μοριακής μηχανικής [4-6].

## 1.2 Ορισμός της Νανοτεχνολογίας

Νανοτεχνολογία ορίζεται η επιστήμη, η μηχανική και η τεχνολογία στη νανοκλίμακα. Χειρίζεται και ελέγχει τα νανοϋλικά με κριτήριο τη βέλτιστη εφαρμογή τους. Ο ορισμός της είναι βασισμένος στο πρόθεμα "νάνο", το οποίο σε πιο τεχνικούς όρους "νάνο" σημαίνει  $10^{-9}$  m. Δεν αφορά μόνο τη μελέτη και την κατανόηση της φύσης σε πολύ μικρή κλίμακα, με την οποία ασχολείται η Νανοεπιστήμη, αλλά και με την πρακτική εφαρμογή αυτής, στην ανάπτυξη νέων προϊόντων, έρευνας και υψηλής τεχνολογίας, αποτελώντας έναν από τους σημαντικότερους τομείς της έρευνας και ανάπτυξης στη σημερινή εποχή.

Νανοκλίμακα, θεωρείται η κλίμακα μεγέθους στην οποία λειτουργεί η νανοτεχνολογία. Το κατώτατο όριο μεγέθους της κλίμακας θεωρείται το μέγεθος ενός ατόμου, ενώ ο ορισμός του ανώτατου ορίου είναι πιο δύσκολος. Για το λόγο αυτό, έχει γίνει αποδεκτό ότι κάτι θα υφίσταται στη νανοκλίμακα όταν τουλάχιστον μια από τις διαστάσεις του θα είναι κάτω από 100 nm. Η ύλη, στα επίπεδα που τη μελετά η νανοτεχνολογία παρουσιάζει κβαντικές ιδιότητες. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι επιτυγχάνει κατάλληλο συνδυασμό με άλλες επιστήμες όπως της χημείας, της φυσικής και της βιολογίας, γι' αυτό και θεωρείται διεπιστημονικό πεδίο.



**Εικόνα 1.2.1:** Κλίμακα μεγέθους νανοσωματιδίων και βιομορίων [7]

Βασικός στόχος της νανοτεχνολογίας είναι να δώσει λύσεις σε πολλά προβλήματα που αντιμετώπιζε ο άνθρωπος μέχρι τώρα, σε διάφορους τομείς όπως είναι η ιατρική, η βιολογία, το φυσικό περιβάλλον, κ.ά [8].

### 1.3 Κατηγορίες και σύνθεση νανοϋλικών

Τα υλικά χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες με βάση τους δεσμούς και τη μοριακή δομή τους σε μέταλλα, κεραμικά και πολυμερή. Τα πολυμερή περιέχουν μικροσφαίρες και μερικές φορές δισδιάστατες δομές που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία τρισδιάστατων δομών (bulk nanostructured). Ως νανοϋλικά ορίζονται οι φυσικές ουσίες οι οποίες έχουν τουλάχιστον τη μια από τις διαστάσεις τους μεταξύ 1-150 nm.

Τα νανοϋλικά εμφανίζουν κάποια πλεονεκτήματα:

- Παρουσιάζουν υψηλή επιφανειακή δραστηριότητα, που τα καθιστά ιδανικά για εφαρμογές στη κατάλυση και τη κατασκευή αισθητήρων.
- Άλληλεπιδρούν άμεσα με τα βιολογικά συστήματα, ώστε να μπορούν να κατασκευαστούν νανοσωματίδια εξειδικευμένα για την εισαγωγή επιθυμητών συστατικών εντός των κυττάρων.

➤ Σημαντικές μαγνητικές και οπτικές ιδιότητες.

Τα νανοϋλικά σύμφωνα με το χώρο που καταλαμβάνουν μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες, όπως είναι τα διακριτά νανοϋλικά (νανοσωματίδια και ίνες με μηδενικές διαστάσεις ή μονοδιάστατα), τα υλικά συσκευών νανοκλίμακας (λεπτά υμένα με νανοδομές σε δύο διαστάσεις), καθώς και τα υλικά όγκου (bulk nanomaterials), όπου είναι τρισδιάστατα. Με κατάλληλη επεξεργασία ένα ογκώδες υλικό μπορεί να μετατραπεί από 3D σε 2D καθώς μειώνεται ο όγκος του κατά μια συγκεκριμένη διάσταση. Αν η σμίκρυνση συνεχιστεί και σε μία ακόμη διάσταση τότε μιλάμε για υλικά μονοδιάστατα 1D, όπως είναι οι νανοσωλήνες άνθρακα, ενώ στην περίπτωση που και η τρίτη διάσταση φθάσει στη νανοκλίμακα το υλικό καθίσταται "αδιάστατο" 0D, όπως είναι οι κβαντικές τελείες.

Τα υλικά μηχανικής χωρίζονται σε δύο επιμέρους κατηγορίες όπως είναι τα νανοκρυσταλλικά υλικά (μικρότερα από 100 nm) και τα νανοδομημένα υλικά.

Για τη σύνθεση των νανοϋλικών χρησιμοποιείται πληθώρα μεθόδων οι οποίες συγκαταλέγονται σε μία από τις κατηγορίες:

- **top-down**, ξεκινώντας από ένα υλικό μηχανικής και με κατάλληλη επεξεργασία δημιουργούμε ένα νανοϋλικό το οποίο δεν έχει ξεκάθαρη δομή, όμως το κόστος του δεν είναι τόσο υψηλό. Εύκολα παρατηρείται ότι σε αυτή ανήκουν οι μέθοδοι στερεάς φάσης.

- **bottom-up**, αντιστρέφεται η πορεία καθώς το νανοϋλικό δημιουργείται από αρχικά υλικά ατομικού ή μοριακού μεγέθους. Ο τρόπος αυτός παρασκευής είναι πολυδάπανος και γενικά μη κατάλληλος για τη δημιουργία υλικών σε μεγάλες ποσότητες, αν και μας επιτρέπουν να έχουμε μια ξεκάθαρη μικροδομή. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι μέθοδοι υγρής και αέριας φάσης [9, 10].

Τα νανοσωματίδια συχνά ορίζονται ως στερεά, κolloειδή σωματίδια μεγέθους 10-1000 nm. Ο όρος πολυμερικά νανοσωματίδια δίνεται για κάθε τύπο πολυμερικού νανοσωματιδίου, αλλά ειδικά για νανοσφαίρες και νανοκάψουλες.

Οι νανοσφαίρες είναι σωματίδια μήτρας, δηλαδή σφαιρικά σωματίδια των οποίων ολόκληρη η μάζα είναι στερεή και μόρια μπορούν να απορροφηθούν

στην επιφάνεια της σφαίρας ή να ενθυλακωθούν εντός του σωματιδίου. Μπορεί να αποτελούνται από διάφορα υλικά όπως μέταλλα (σίδηρος, νικέλιο, κοβάλτιο, χρυσός, αλουμίνιο, τιτάνιο, πλατίνα, πυρίτιο κλπ), από κράματα μετάλλων (νικέλιο/κοβάλτιο, νικέλιο/πλατίνα) αλλά και από πολυμερή όπως πολυστυρένιο (Polystyrene), πολυμεθαακρυλικός μεθυλεστέρας (Polymethylmethacrylate, PMMA) και άλλα. Οι εφαρμογές των νανοσφαιρών ποικίλουν εξαιτίας των πολλών ιδιοτήτων τους όπως, μαγνητικές, οπτικές, θερμικές, ενεργειακές, περιβαλλοντικές, ηλεκτρονικές, μηχανικές και βιοϊατρικές.

Στην περίπτωση της νανοκάψουλας, η παγιδευμένη ουσία εγκλείεται σε μία κοιλότητα που αποτελείται από ένα υγρό πυρήνα καλυμμένο από μία πολυμερική μεμβράνη.

Η σύνθεση των νανοσφαιρών μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο μεθόδους οι οποίες είναι οι παρακάτω:

- A. Πολυμερισμός γαλακτώματος
- B. Διεπιφανειακός πολυμερισμός

Πιο συγκεκριμένα, η σύνθεση των νανοσφαιρών μπορεί να γίνει με τεχνικές όπως:

1. Γαλακτωματοποίηση/Εξάτμιση διαλύτη
2. Γαλακτωματοποίηση/Διάχυση διαλύτη
3. Διαχωρισμός με τη βοήθεια αλάτων
4. Αντικατάσταση διαλύτη ή αλλιώς νανοκαθίζηση [11-13]

Η γαλακτωματοποίηση/εξάτμιση διαλύτη περιλαμβάνει δύο στάδια εκ των οποίων το πρώτο σχετίζεται με τη γαλακτωματοποίηση του πολυμερικού διαλύματος στην υδάτινη φάση, ενώ το δεύτερο αφορά την εξάτμιση του διαλύτη το οποίο οδηγεί στην καταβύθιση του πολυμερούς με τη μορφή νανοσφαιρών. Η αντικατάσταση του διαλύτη και η διεπιφανειακή εναπόθεση είναι παρόμοιες μέθοδοι οι οποίες βασίζονται στην αυτόματη



γαλακτωματοποίηση της οργανικής φάσης που βρίσκεται στο εσωτερικό και περιέχει το διαλυμένο πολυμερές και η οποία περικλείεται από την υδάτινη εξωτερική φάση. Ωστόσο, η αντικατάσταση του διαλύτη σχηματίζει νανοσφαίρες ή νανοκάψουλες, ενώ με τη διεπιφανειακή εναπόθεση σχηματίζονται μόνο νανοκάψουλες.

Στην τεχνική της γαλακτωματοποίησης/διάχυσης διαλύτη το πολυμερές το οποίο είναι εγκλωβισμένο στην κάψουλα διαλύεται σε έναν διαλύτη, ο οποίος διαλύεται μερικώς στο νερό, όπως το ανθρακικό προπυλένιο και διαβρέχεται με το νερό για να εξασφαλιστεί το αρχικό θερμοδυναμικό ισοζύγιο και των δύο υγρών [13].

#### **1.4 Εφαρμογές**

Η σταδιακή εξέλιξη της νανοτεχνολογίας στις μέρες μας, έχει συμβάλει και στην ανάπτυξη πολλών επιστημονικών πεδίων, δυο εκ των οποίων είναι οι βιοεπιστήμες και η νανοϊατρική. Ο όρος βιοεπιστήμες αναφέρεται σε επιστήμες οι οποίες ασχολούνται με ζωντανούς οργανισμούς όπως η βιολογία και η βιοτεχνολογία, ενώ ο όρος νανοϊατρική, αναφέρεται στην εφαρμογή της νανοτεχνολογίας στην ιατρική. Μέσω της νανοτεχνολογίας, λοιπόν, έχει αναπτυχθεί μία πληθώρα εφαρμογών που στόχο έχουν τη διάγνωση και τη θεραπεία σοβαρών ασθενειών που απαντώνται συχνά στις μέρες μας, όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η νόσος Alzheimer και άλλες, που διερευνώνται μέχρι και σήμερα.

##### **1.4.1 Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στη βιολογία**

Η επιστήμη της νανοβιολογίας έχει προχωρήσει σημαντικά και μπορεί να χωριστεί σε διάφορες ειδικότητες, όπως είναι η κυτταρική βιολογία, η γονιδιωματική, η ογκολογία, η διάγνωση, η στοχευμένη χορήγηση φαρμάκων, κλπ. Η ιδέα της δημιουργίας των υβριδικών συστημάτων των ανόργανων νανοσωματιδίων με βιολογικές ομάδες, βοήθησε στην επίλυση πολλών τεχνικών προβλημάτων στην ιατρική και τις βιοεπιστήμες. Με αυτό τον τρόπο

τέθηκαν οι βάσεις για πολλές νέες μεθοδολογίες, οι οποίες είναι ικανές να επιλύσουν πολλές τεχνικές δυσκολίες στη βιοανάλυση. Οι ιδέες και οι καινοτομίες της νανοβιολογίας μπορούν να επεκταθούν στα σύνορα της βιοτεχνολογίας. Παραδείγματα εφαρμογών της νανοτεχνολογίας στις βιοεπιστήμες αποτελούν τα παρακάτω:

- Φαρμακογονιδιωματική θεραπεία

Είναι η μελέτη της γενετικής κληρονομικότητας ενός ατόμου, η οποία επηρεάζει την αντίδρασή του κατά τη χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής. Στοχεύει, στην παρασκευή φαρμάκων, τα οποία θα προσαρμόζονται στο γενετικό υλικό του κάθε ασθενούς ξεχωριστά.

- Γονιδιακή θεραπεία

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία ασθενειών όπως ο καρκίνος, αντικαθιστώντας τα γονίδια που είναι ελαττωματικά με φυσιολογικά [14, 15].

#### **1.4.2 Εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στη νανοϊατρική**

Οι εφαρμογές της νανοτεχνολογίας στην ιατρική ποικίλουν σε σύγκριση με εκείνες στις βιοεπιστήμες, καθώς με την ανακάλυψη της νέας αλλά και πρωτοπόρας αυτής επιστήμης, η ιατρική ευνοήθηκε, ανακαλύπτοντας μεθόδους αλλά και εφαρμογές που θα ωφελήσουν όλη την ανθρωπότητα.

- Συστήματα μεταφοράς φαρμάκων

Στη νανοτεχνολογία χρησιμοποιούνται νανοσωματίδια διαφόρων μεγεθών, 5-500 nm, και μορφολογιών για τη στοχευμένη μεταφορά φαρμάκων. Η απαιτούμενη δόση του φαρμάκου που χρησιμοποιείται, καθώς και οι παρενέργειες του μειώνονται σημαντικά, καθώς ο δραστικός παράγοντας εναποτίθεται μόνο στην πάσχουσα περιοχή. Αυτή η ιδιαίτερα επιλεκτική προσέγγιση μπορεί να μειώσει το κόστος και τον πόνο στους ασθενείς. Έτσι, ποικιλία νανοσωματιδίων όπως τα δενδριμερή, και τα νανοπορώδη υλικά βρίσκουν εφαρμογή. Επιπλέον, τα μικκύλια χρησιμοποιούνται για ενθυλάκωση φαρμάκων και μεταφέρουν μικρά μόρια φαρμάκου στην επιθυμητή θέση.

- Τεχνικές θεραπείας

Νανοσωματίδια σιδήρου ή κελύφη χρυσού (gold shells) βρίσκουν σημαντική εφαρμογή στη θεραπεία του καρκίνου. Επιπροσθέτως, τα νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου (μαγνητίτης ή μαγγελίτης) χρησιμοποιούνται στην τεχνική της υπερθερμίας κατά την οποία η θερμοκρασία των μαγνητικών νανοπεριεκτών αυξάνεται, όταν εφαρμόζεται σε αυτά εναλλασσόμενο μαγνητικό πεδίο.

- Επιδιόρθωση των κυττάρων

Συσκευές που έχουν κατασκευασθεί με τη νανοτεχνολογία, όπως είναι τα νανο-ρομπότ στοχεύουν στη βελτίωση της στοχευμένης μεταφοράς φαρμάκων. Επίσης, δύναται να παρασκευασθούν νανο-ρομπότ τα οποία θα είναι προγραμματισμένα να επιδιορθώνουν νοσούντα κύτταρα δρώντας με τρόπο παρόμοιο με τα αντισώματα.

- Τεχνικές απεικόνισης

Η απεικόνιση *in vivo* είναι μια άλλη περιοχή όπου αναπτύσσονται νανοεργαλεία και νανοσυσκευές. Τα νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου χρησιμοποιούνται στην απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI).

- Αντιμικροβιακή δράση

Η μεταφορά νανοσωματιδίων, που περιέχει ένα υπόστρωμα pH ευαίσθητων αλυσίδων από το αμινοξύ ιστιδίνη, χρησιμοποιείται για την καταστροφή των βακτηρίων που έχουν αναπτύξει αντοχή στα αντιβιοτικά [15, 16].

Τελικά, μια περαιτέρω έρευνα στη νανοτεχνολογία, μπορεί να είναι χρήσιμη για κάθε πτυχή της ανθρώπινης ζωής, δίνοντας λύσεις σε μεγάλα προβλήματα.

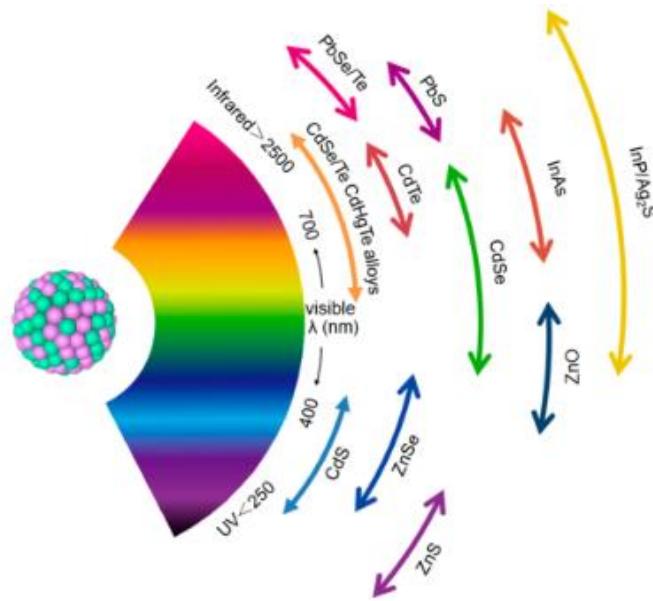


## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Κβαντικές τελείες

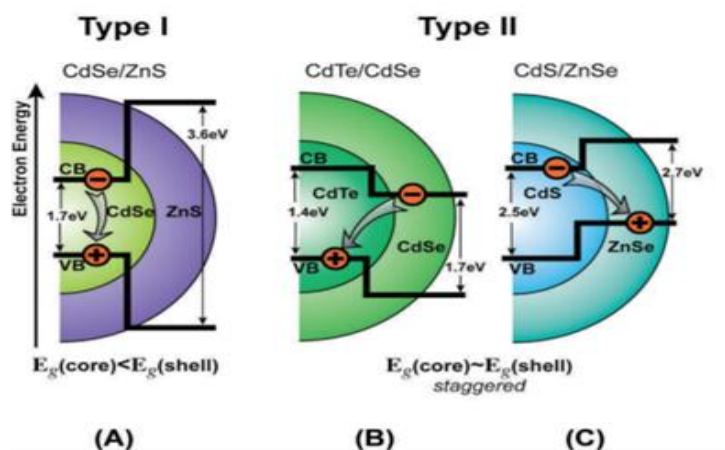
#### 2.1 Τι είναι οι κβαντικές τελείες;

Οι κβαντικές τελείες είναι ανόργανοι ημιαγώγιμοι νανοκρύσταλλοι, μεγέθους 2-10 nm το οποίο είναι μικρότερο από το μήκος της εξιτόνιας ακτίνας του Bohr. Περιέχουν περίπου 200-10.000 άτομα και το σχήμα τους είναι κυρίως σφαιρικό και είναι πιο εύκολος ο υπολογισμός της εξίσωσης Schrodinger, καθώς μοιάζουν με τα άτομα. Περιέχουν περιορισμένο αριθμό ηλεκτρονίων τα οποία λόγω του μικρού μεγέθους των τελειών βρίσκονται περιορισμένα σε μηδενικές διαστάσεις. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα το υλικό να μην έχει συνεχές ενεργειακό φάσμα, αλλά να παρουσιάζει φάσμα με διακριτές κβαντισμένες ενεργειακές καταστάσεις. Οι κβαντικές τελείες έχουν την ιδιότητα να εκπέμπουν ακτινοβολία, το μήκος κύματος της οποίας εξαρτάται άμεσα από το μέγεθός τους. Χάρη στις μοναδικές οπτικές και ηλεκτρονικές τους ιδιότητες, οι κβαντικές τελείες έχουν βρει σημαντικές εφαρμογές που περιλαμβάνουν *in vitro* διαγνωστικά, κυτταρική και *in vivo* απεικόνιση, καθώς και μεταφορά φαρμάκων και θεραπευτικές εφαρμογές.



Εικόνα 2.1.1: Αντιπροσωπευτικά υλικά κβαντικών τελειών στο φάσμα εκπομπής τους [17]

Υπάρχουν δύο είδη κβαντικών τελειών, τα οποία διαφέρουν ως προς τις θέσεις του ηλεκτρονίου και της οπής. Στο ένα είδος, το ηλεκτρόνιο και η οπή είναι και τα δύο περιορισμένα στην κβαντική τελεία, ενώ στο άλλο είδος, το ηλεκτρόνιο βρίσκεται στη μήτρα και η οπή στην τελεία [18-21].



Εικόνα 2.1.2: Κβαντική τελεία Τύπου I και Τύπου II [20]

## 2.2 Θεωρία ενεργειακών ζωνών

Η αγωγιμότητα των στερεών υλικών καθορίζεται από τη διαφορά ανάμεσα στα ενεργειακά επίπεδα των ζωνών σθένους και αγωγιμότητας. Η ζώνη σθένους είναι το υψηλότερο ηλεκτρονιακό ενεργειακό επίπεδο το οποίο καταλαμβάνεται από ηλεκτρόνια, ενώ η ζώνη αγωγιμότητας είναι το χαμηλότερο ηλεκτρονιακό ενεργειακό επίπεδο το οποίο δεν καταλαμβάνεται από ηλεκτρόνια, σε θερμοκρασία δωματίου. Ένα ηλεκτρόνιο εισέρχεται από τη ζώνη σθένους, στη ζώνη αγωγιμότητας λαμβάνοντας ενέργεια είτε μέσω της απορρόφησης φωτονίων, είτε θερμικά με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας θετικά φορτισμένης οπής στη ζώνη σθένους. Η ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο ζωνών, η οποία ονομάζεται ενεργειακό χάσμα  $E_g$  (band gap), καθορίζει την ενέργεια που απαιτείται ώστε ένα ηλεκτρόνιο να εισέλθει στη ζώνη αγωγιμότητας και εκφράζεται σε eV.

Τα υλικά διακρίνονται σε αγωγούς, μονωτές και ημιαγωγούς, ανάλογα με το αν η ζώνη αγωγιμότητας είναι πλήρως κατειλημμένη ή όχι. Στους αγωγούς αυτή η ζώνη δεν είναι πλήρως κατειλημμένη, με αποτέλεσμα τα ηλεκτρόνια να μπορούν εύκολα να κινηθούν με μια μικρή θερμοκρασιακή διέγερση ή εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου, κάνοντας έτσι το υλικό αγώγιμο. Οι μονωτές, αντίθετα, έχουν πλήρως κατειλημμένη ζώνη σθένους ενώ η ζώνη αγωγιμότητας είναι κενή. Το ενεργειακό χάσμα μεταξύ των ζωνών είναι πολύ μεγάλο, με αποτέλεσμα το υλικό να μην άγει τη θερμότητα ή τον ηλεκτρισμό. Τέλος, οι ημιαγωγοί έχουν παρόμοια ηλεκτρονιακή διάταξη με αυτή των μονωτών, με τη διαφορά ότι το ενεργειακό χάσμα στους ημιαγωγούς είναι πολύ μικρότερο. Έτσι, σε κάποιες περιπτώσεις, οι ημιαγωγοί μπορούν να δράσουν ως αγωγοί ή ως μονωτές [3, 18].

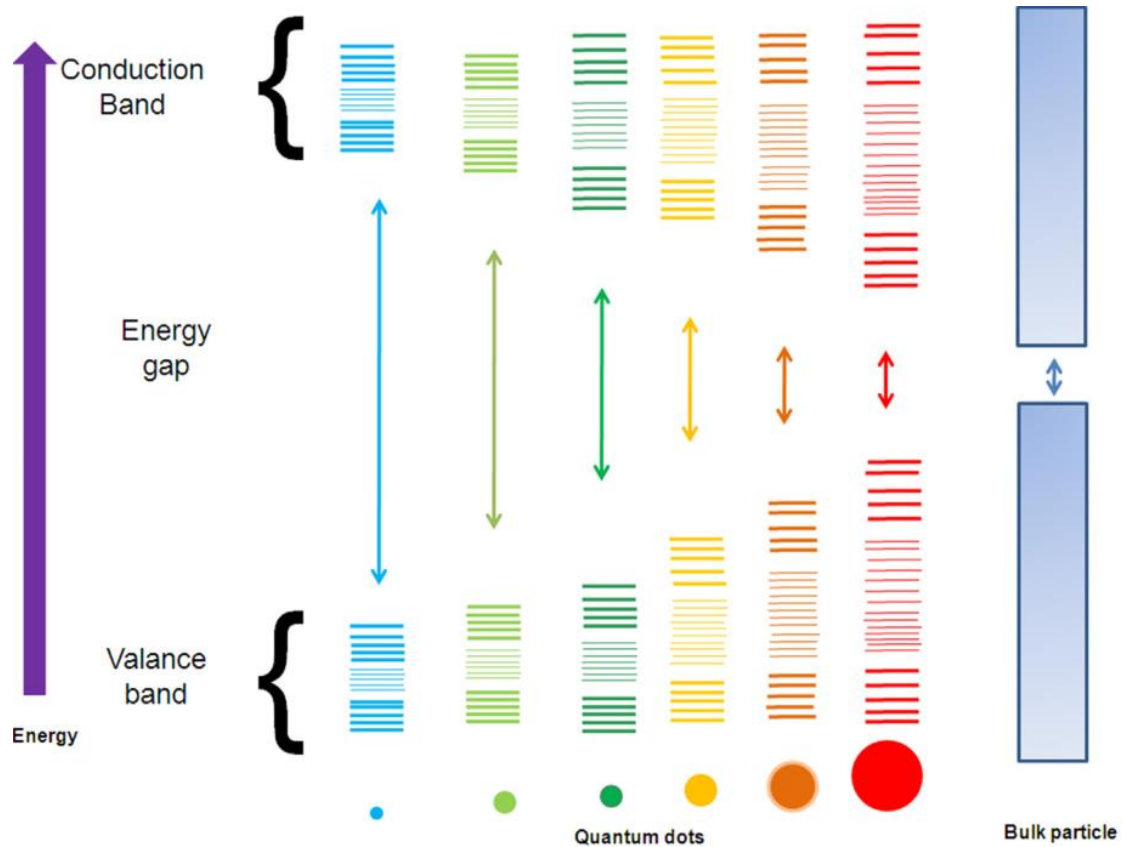
## 2.3 Κβαντικός περιορισμός

Η απόσταση μεταξύ ηλεκτρονίου-οπής ονομάζεται εξιτόνιο, γνωστό και ως εξιτόνια ακτίνα του Bohr. Όταν τα συμπαγή ημιαγώγιμα στερεά υλικά μειώνονται στη νανοκλίμακα, τότε τα νανοσωματίδια γίνονται μικρότερα από την εξιτόνια ακτίνα, προκαλώντας περιορισμό της ενέργειας λόγω της

συμπίεσης των ζευγών ηλεκτρονίων-οπών. Κατά συνέπεια, τα ηλεκτρόνια υφίστανται κβαντικό περιορισμό και η ενέργεια μετατοπίζεται σε υψηλότερο επίπεδο, προκαλώντας κβαντικά φαινόμενα στο υλικό.

Επιπλέον, σημαντική ιδιότητα των κβαντικών τελειών είναι και η εξάρτηση του ενεργειακού χάσματος από το μέγεθος των νανοσωματιδίων. Το ενεργειακό χάσμα αυξάνεται όταν η διάμετρος των κβαντικών τελειών είναι μικρότερη από μια συγκεκριμένη τιμή, η οποία εξαρτάται από το είδος του ημιαγωγού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μπορεί να ρυθμιστεί το ενεργειακό χάσμα και κατ' επέκταση οι οπτικές ιδιότητες των τελειών ρυθμίζοντας ανάλογα το μέγεθός τους. Κατά τη σύνθεση μικρότερων κβαντικών τελειών, συμπιέζονται περισσότερο τα ζεύγη ηλεκτρονίων-οπών, οδηγώντας σε υψηλότερο ενεργειακό επίπεδο και χαμηλότερο μήκος κύματος, δίνοντας μπλε χρώμα. Αντίθετα, μεγαλύτερου μεγέθους κβαντικές τελείες, οδηγούν σε χαμηλότερο ενεργειακό επίπεδο, δίνοντας κόκκινο χρώμα.





**Εικόνα 2.3.1:** Το ενεργειακό χάσμα αυξάνεται με τη μείωση του μεγέθους των κβαντικών τελειών [3]

Άλλες σημαντικές, φυσικοχημικές ιδιότητες των τελειών όπως είναι η αντίσταση στη φωτολεύκανση και στη χημική αποικοδόμηση, λόγω της ανόργανης φύσης τους, τις καθιστά εξαιρετικά αποτελεσματικούς ανιχνευτές απεικόνισης για μεγάλο διάστημα. Επιπλέον, έχουν ιδιαίτερα ευρύ φάσμα διέγερσης και εκπομπής, επιτρέποντας τη διέγερση διαφορετικών κβαντικών τελειών με την ίδια δέσμη φωτός. Τα φάσματα εκπομπής QDs μπορούν να είναι τόσο στενά όσο τα 20 nm στο φάσμα του ορατού, που επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση διακριτών σημάτων χωρίς παρεμβολές. Τέλος, εμφανίζουν μεγάλη κβαντική απόδοση φθορισμού. Όλες οι παραπάνω ιδιότητες τις καθιστούν κατάλληλες για ευρύ φάσμα βιοϊατρικών εφαρμογών όπως η μεταφορά φαρμάκων, η γονιδιακή θεραπεία, κ.ά [3, 22].

## 2.4 Εμπλουτισμός κβαντικών τελειών

Ο εμπλουτισμός είναι μια σημαντική πτυχή στις κβαντικές τελείες όταν αυτές χρησιμοποιούνται για διάφορες τεχνολογικές εφαρμογές και μπορεί να βελτιώσει τις οπτικές τους ιδιότητες. Πολλά στοιχεία μετάπτωσης έχουν χρησιμοποιηθεί για ενίσχυση, όπως είναι το χρώμιο (Cr), το μαγγάνιο (Mn), ο σίδηρος (Fe), το κοβάλτιο (Co), ο χαλκός (Cu), ο άργυρος (Ag) και άλλα στοιχεία, όπως, ο φώσφορος (P), το βόριο (B), το νάτριο (Na) και το λίθιο (Li) για διαφορετικές εφαρμογές. Οι προσμίξεις, που ονομάζονται ενεργοποιητές, διαταράσσουν τη δομή των κβαντικών τελειών, δημιουργώντας κβαντικές καταστάσεις μέσα στα ενεργειακά χάσματα. Λόγω του κβαντικού περιορισμού αυτοί οι ενεργοποιητές αυτοϊοντίζονται χωρίς να απαιτείται θερμική ενεργοποίηση. Ο αυτοϊοντισμός λαμβάνει χώρα όταν η ενέργεια κβαντικού περιορισμού υπερβαίνει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φορέων φορτίου και των προσμίξεων. Οι οπτικές ιδιότητες των κβαντικών τελειών μεταβάλλονται ανάλογα με την ποσότητα αλλά και τη θέση των ενεργοποιητών. Όσον αφορά την αγωγιμότητα σε φιλμ κβαντικών τελειών που περιέχουν ενεργοποιητές, εξαρτάται από την ομοιομορφία τους αλλά και από τις αποστάσεις μεταξύ τους, έτσι ώστε να μεγιστοποιείται η επικάλυψη των τροχιακών τους [23-31].

## 2.5 Δημιουργία κράματος κβαντικών τελειών

Διατηρώντας σταθερό το μέγεθος των κβαντικών τελειών είναι δυνατό να ρυθμιστεί το ενεργειακό τους χάσμα, μεταβάλλοντας ανάλογα τη σύσταση του πυρήνα. Τα στοιχεία που συνθέτουν τον πυρήνα καθώς και οι αναλογίες τους, μπορούν να αλλάξουν τις οπτικοηλεκτρονικές ιδιότητες των κβαντικών τελειών. Το ενδιαφέρον αυτής της διαδικασίας έγκειται στο ότι αυτές οι νανοδομές ημιαγωγών έχουν διαφορετικές και μη γραμμικές οπτικοηλεκτρονικές ιδιότητες. Επιπλέον, κβαντικές τελείες που έχουν υποστεί τροποποίηση με πολλαπλά ημιαγωγικά στοιχεία, παρουσιάζουν μικτές ή ενδιάμεσες ιδιότητες. Παραδείγματος χάριν, συνθέτοντας κβαντικές τελείες CdHgTe και μεταβάλλοντας τη σύσταση των ημιαγωγικών στοιχείων, επιτεύχθηκε εκπομπή φθορισμού στην περιοχή 600-1350 nm. Επιπλέον, είναι δυνατόν να

βελτιστοποιηθεί η εκπομπή φθορισμού και να επιτευχθεί στενό ημιέυρος της καμπύλης εκπομπής φωτοφωταύγειας (PL) [32].

## **2.6 Δομή επιφάνειας**

Λόγω της υψηλής αναλογίας της επιφάνειας προς τον όγκο, οι ενεργειακές καταστάσεις των κβαντικών τελειών που σχετίζονται με την επιφάνειά τους, έχουν σημαντικές επιπτώσεις στις οπτικές τους ιδιότητες. Οι καταστάσεις αυτές οφείλονται κυρίως σε ατέλειες της επιφάνειας και μπορούν να επηρεάσουν την οπτική απορρόφηση, την κβαντική απόδοση, την ένταση και το φάσμα φθορισμού κ.α. Η επιφάνεια μπορεί να υποστεί αδρανοποίηση με την προσθήκη ενός εξωτερικού περιβλήματος (κέλυφος) και έτσι ο φορέας φορτίου περιορίζεται μέσα στον πυρήνα και βελτιώνονται οι οπτικές ιδιότητες [33].

### **2.6.1 Αδρανοποίηση επιφάνειας**

Η κάλυψη ή η αδρανοποίηση της επιφάνειας είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη φωτοσταθερών κβαντικών τελειών. Αν τα ανιόντα που συνδέονται στην επιφάνεια δεν αδρανοποιηθούν, μια ζώνη επιφανειακών καταστάσεων αναμένεται στο χάσμα (gap) πάνω από την άκρη της ζώνης σθένους. Ωστόσο και η αδρανοποίηση ανιόντων με κατιόντα θα αφήσουν ασύζευκτους (dangling) δεσμούς που θα οδηγήσουν σε μια ευρεία ζώνη επιφανειακών καταστάσεων ακριβώς κάτω από την άκρη της ζώνης αγωγιμότητας. Επομένως, η επιφανειακή τροποποίηση των κβαντικών τελειών είναι ιδιαίτερα απαιτητική και μπορεί να γίνει με την προσθήκη ενός εξωτερικού περιβλήματος όπως τα παρακάτω:

#### **A. Οργανικό περίβλημα**

Η επικάλυψη με οργανικό περίβλημα, γίνεται συνήθως με την εισαγωγή οργανικών μορίων τα οποία προσροφώνται στην επιφάνεια των κβαντικών τελειών. Το πλεονέκτημα αυτής της διαδικασίας είναι η παραλαβή κολλοειδούς

εναιωρήματος και ταυτόχρονα η δυνατότητα βιολογικής σύζευξης του προϊόντος. Ωστόσο, απαιτείται η σωστή επιλογή των κατάλληλων οργανικών μορίων που θα συνδεθούν με τα επιφανειακά άτομα των κβαντικών τελειών. Συνήθως επιλέγονται φωσφίνες, όπως το τρι-οκτυλο φωσφινικό οξείδιο ή (tri-n-octyl phosphene oxide (TOPO) ή μερκαπτάνες (-SH). Πολλά από αυτά τα οργανικά έχουν παραμορφωμένο σχήμα και είναι μεγάλα σε μέγεθος. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, πολλές φορές, να εμποδίζεται στερεοχημικά η επικάλυψη της επιφάνειας με οργανικά μόρια. Οι οργανικά επικαλυμμένες κβαντικές τελείες είναι φωτοασταθείς. Οι δεσμοί μεταξύ των μορίων του περιβλήματος και των επιφανειακών ατόμων είναι γενικά ασθενείς, με αποτέλεσμα τη μη ικανοποιητική αδρανοποίηση της επιφάνειας και τη δημιουργία νέων επιφανειακών καταστάσεων κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία. Αυτές οι καταστάσεις επηρεάζουν αρνητικά τις οπτικές ιδιότητες των κβαντικών τελειών.

Ένα παράδειγμα είναι η αδρανοποίηση και τροποποίηση της επιφάνειας κβαντικών τελειών CdTe με τη χρήση αλβουμίνης βόειου ορού (BSA) με σκοπό να γίνουν υδατοδιαλυτές. Μετουσιωμένη BSA (dBSA) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί βελτιώνοντας τη χημική σταθερότητα και την κβαντική απόδοση, όμως, σε συγκεκριμένο εύρος pH και συγκέντρωσης. Τέλος, έχει αναφερθεί αδρανοποίηση της επιφάνειας κβαντικών τελειών CdS και με DNA, το οποίο τις καθιστά σταθερές και μη τοξικές σε βιολογικά συστήματα [34].

## **B. Ανόργανο περίβλημα**

Ένας δεύτερος τρόπος αδρανοποίησης της επιφάνειας των κβαντικών τελειών είναι η προσθήκη ενός εξωτερικού ανόργανου περιβλήματος. Αυτό γίνεται κυρίως με υλικά που έχουν μεγαλύτερο ενεργειακό χάσμα από αυτά του πυρήνα. Το περίβλημα αναπτύσσεται είτε επιταξιακά είτε όχι, σαν μια κρυσταλλική ή άμορφη στρώση γύρω από τον πυρήνα. Η κβαντική απόδοση αυξάνεται όταν η στρώση αυτή είναι ομοιόμορφη. Κατά την επιταξιακή ανάπτυξη αναπτύσσονται δυνάμεις συνοχής οι οποίες επηρεάζουν τις ιδιότητες των κβαντικών τελειών. Για παράδειγμα, είναι δυνατό να μετατοπίσουν τα φάσματα εκπομπής και απορρόφησης προς το κόκκινο άκρο του ορατού

φάσματος. Η απόδοση φωταύγειας εξαρτάται επίσης και από το πάχος του περιβλήματος.

Για την επιλογή του κατάλληλου υλικού για την επικάλυψη, εκτός από το ενεργειακό του χάσμα, αποτελεί κριτήριο και η υδροφιλικότητά του. Οι κβαντικές τελείες συνήθως συντίθενται σε μη πολικούς, μη υδατικούς διαλύτες, πράγμα που τις καθιστά υδρόφοβες. Έτσι, η πλειοψηφία των κβαντικών τελειών με ανόργανο περίβλημα δεν διασπείρονται στο νερό λόγω του υδρόφοβου περιβλήματός τους. Ιδιαίτερα για βιολογικές εφαρμογές είναι απαραίτητη η επιλογή κατάλληλου υλικού για την αδρανοποίηση της επιφάνειας, όπως είναι το πυρίτιο (Si). Οι περισσότερες περιέχουν τοξικά ιόντα όπως τελλούριο (Te), κάδμιο (Cd), σελήνιο (Se) κ.α. Για το λόγο αυτό είναι πολύ σημαντική η αδρανοποίηση της επιφάνειας με μια επικάλυψη οξειδίου, ώστε να μειωθεί η τοξικότητα, κυρίως όταν πρόκειται για βιολογικές εφαρμογές. Η προσθήκη περιβλήματος πυριτίου, μειώνει την τοξικότητα τους και διευκολύνει την τροποποίηση με βιομόρια, όπως πρωτεΐνες, οι οποίες συμβάλλουν και στη μεγαλύτερη φωτοσταθερότητα των κβαντικών τελειών.

Ωστόσο, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ελλιπούς αδρανοποίησης με αποτέλεσμα να επηρεάζονται αρνητικά οι ιδιότητες των κβαντικών τελειών. Πιο συγκεκριμένα, ένα σημαντικό ποσοστό κβαντικών τελειών που δεν φθορίζει, είναι πιθανό ο πυρήνας αλλά και το περίβλημα να υποστούν φωτο-οξειδωση, έχουν μικρότερη κβαντική απόδοση και τέλος, παρατηρείται διακύμανση της έντασης λόγω του ότι οι φορείς φορτίων παγιδεύονται στις επιφανειακές καταστάσεις.

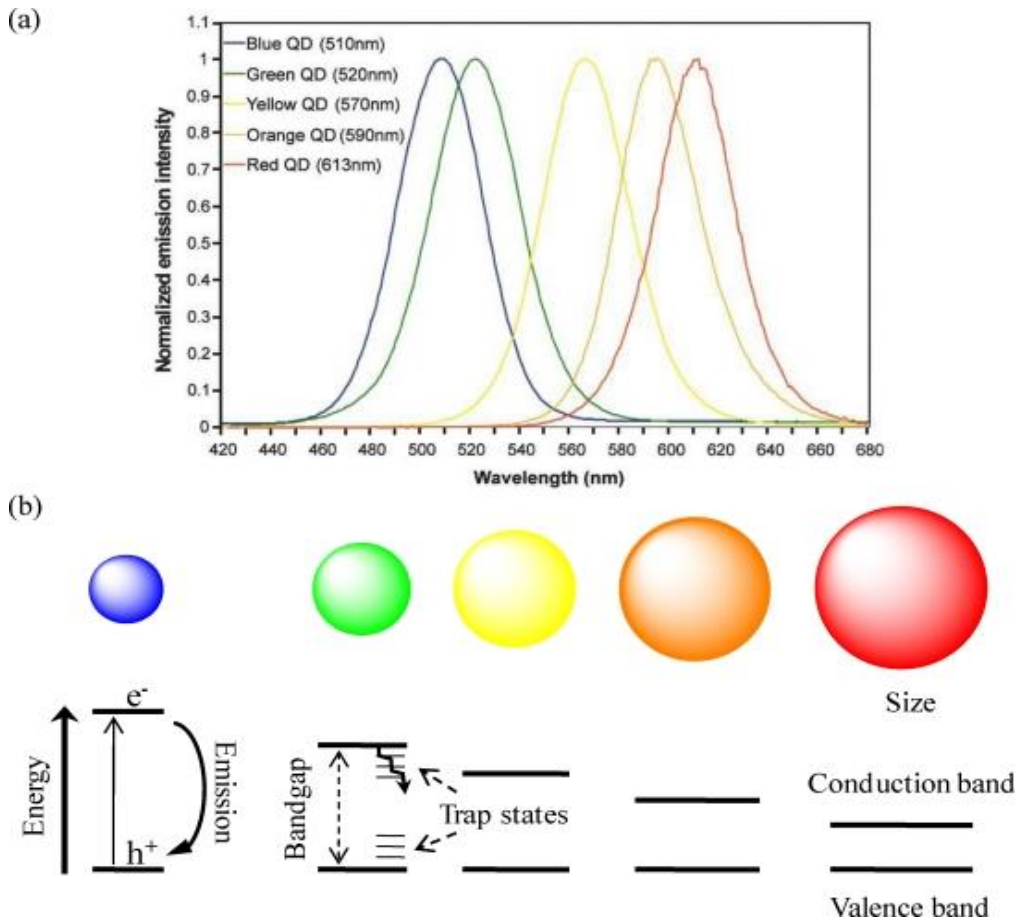
### **Γ. Πολλαπλό περίβλημα**

Για τη βελτίωση των οπτικών ιδιοτήτων των κβαντικών τελειών είναι δυνατό να γίνει επικάλυψη με πολλαπλό εξωτερικό περίβλημα. Η αναντιστοιχία στο πλέγμα και η διαφορά των ενεργειακών χασμάτων μεταξύ του πυρήνα και του κελύφους επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες τους. Με την προσθήκη διπλού κελύφους μπορούν να συνδυαστούν τα πλεονεκτήματα των δύο επιμέρους, με αποτέλεσμα την παραλαβή κβαντικών τελειών με τις βέλτιστες δυνατές

ιδιότητες. Για παράδειγμα, στην περίπτωση των κβαντικών τελειών CdSe/CdS υπάρχει μικρή αναντιστοιχία στο πλέγμα αλλά και μικρή μετατόπιση των ζωνών. Το ακριβώς αντίθετο ισχύει για τις κβαντικές τελείες CdSe/ZnS. Συνθέτοντας κβαντικές τελείες με διπλό κέλυφος CdSe/CdS/ZnS, συνδυάζονται οι ιδιότητες των προηγούμενων και το αποτέλεσμα είναι η διατήρηση της μικρής ανομοιομορφίας στο πλέγμα και η μεγάλη μετατόπιση των ενεργειακών ζωνών [18, 35].

## 2.7 Εκπομπή φθορισμού

Όταν ένας ημιαγωγός απορροφήσει ένα φωτόνιο, ένα ηλεκτρόνιο διεγείρεται και από τη ζώνη σθένους μεταπίπτει στη ζώνη αγωγιμότητας. Στη θέση του ηλεκτρονίου μένει μια κενή θέση με θετικό φορτίο που ονομάζεται οπή. Αν το ηλεκτρόνιο παραμείνει κοντά στη ζώνη σθένους, ανάμεσα σε αυτό και την οπή αναπτύσσονται ελκτικές δυνάμεις Coulomb, οι οποίες τα συγκρατούν μεταξύ τους, σχηματίζοντας έτσι ένα ζεύγος ηλεκτρονίου-οπής, το εξιτόνιο. Το σύστημα του εξιτονίου μοιάζει με το άτομο του υδρογόνου, καθώς το ηλεκτρόνιο περιφέρεται γύρω από την οπή. Όταν το ηλεκτρόνιο επιστρέψει στη θεμελιώδη του κατάσταση και επανασυνδεθεί με την οπή, είναι πιθανό να ακολουθήσει εκπομπή ακτινοβολίας με τη μορφή φθορισμού. Όπως, αναφέρεται και στην αρχή του κεφαλαίου, ο φθορισμός συσχετίζεται άμεσα με τα ενεργειακά επίπεδα των κβαντικών τελειών. Οι μεγαλύτερες τελείες έχουν περισσότερα ενεργειακά επίπεδα που χωρίζονται από μικρότερα διαστήματα. Με αυτόν τον τρόπο, οι κβαντικές τελείες μπορούν να απορροφήσουν φωτόνια που έχουν μικρότερη ενέργεια, δηλαδή προς το ερυθρό άκρο του φάσματος, ενώ οι μικρότερες τελείες φθορίζουν προς το μπλε άκρο του φάσματος [36].



**Εικόνα 2.7.1:** (a) Φάσμα εκπομπής κβαντικών τελειών, (b) απεικόνιση του ελέγχου του μεγέθους των κβαντικών τελειών και της δημιουργίας του εξιτονίου [37]

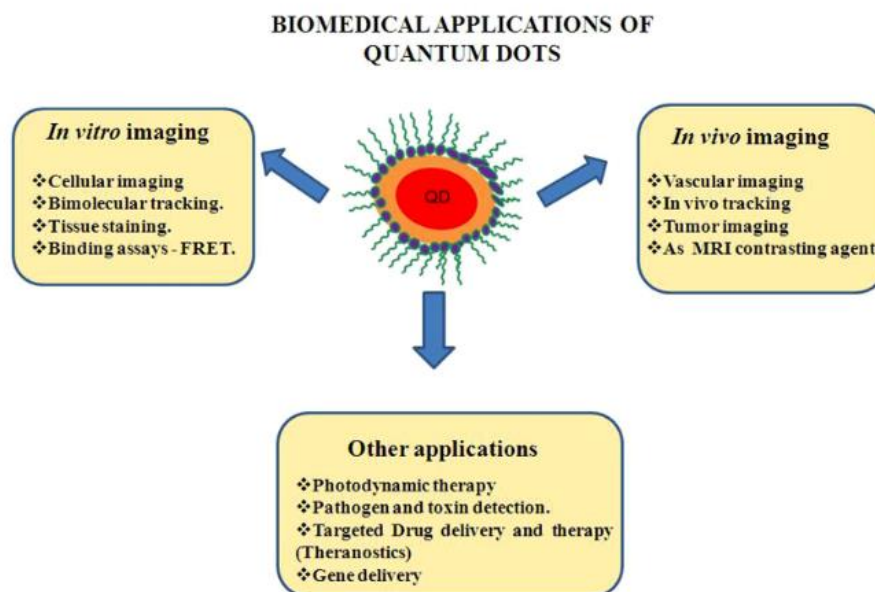
## 2.8 Εφαρμογές κβαντικών τελειών

Οι εφαρμογές των κβαντικών τελειών τα τελευταία χρόνια είναι ποικίλες. Οι μοναδικές οπτικές ιδιότητες τους, τις καθιστούν κατάλληλες για *in vivo* και *in vitro* απεικόνιση. Οι οργανικές χρωστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται ως μοριακοί ανιχνευτές δεν παρουσιάζουν μεγάλη ευελιξία και με το πέρασμα του χρόνου δεν είναι αποτελεσματικές στην απεικόνιση. Αντίθετα, οι φυσικές και χημικές ιδιότητες των τελειών, τους προσδίδουν αρκετά πλεονεκτήματα για χρήση σε βιολογικές αναλύσεις, σε σύγκριση με τις ευρέως χρησιμοποιούμενες φθορίζουσες ουσίες. Οι δυνατότητες που προσφέρουν, όπως, η ρύθμιση της απορρόφησης και της εκπομπής ανάλογα με το μέγεθός τους, ο συνδυασμός με άλλους βιοδραστικούς παράγοντες αλλά και μεταξύ τους, καθώς και το γεγονός ότι ο χρόνος ζωής του φθορισμού τους είναι μεγαλύτερος από αυτόν

του αυτοφθορισμού των ιστών, τις καθιστούν πολύτιμες σε *in vivo* και *in vitro* απεικονίσεις αλλά και στη διάγνωση.

### 2.8.1 Εφαρμογές των κβαντικών τελειών στη βιοϊατρική

Οι κβαντικές τελείες χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία για την κυτταρική επισήμανση για μια ποικιλία βιοαναλυτικών σκοπών, όπως η ανίχνευση πρωτεϊνών, DNA και άλλων βιομορίων, καθώς και η χρήση τους ως βιοαισθητήρες χάρη στην ικανότητά τους να συμμετέχουν στη μεταφορά ενέργειας συντονισμού φθορισμού (FRET). Μεταξύ των διάφορων εφαρμογών, η βιοϊατρική απεικόνιση, μέσω φθορισμού παραμένει η πιο ελκυστική και προηγμένη εφαρμογή τους.

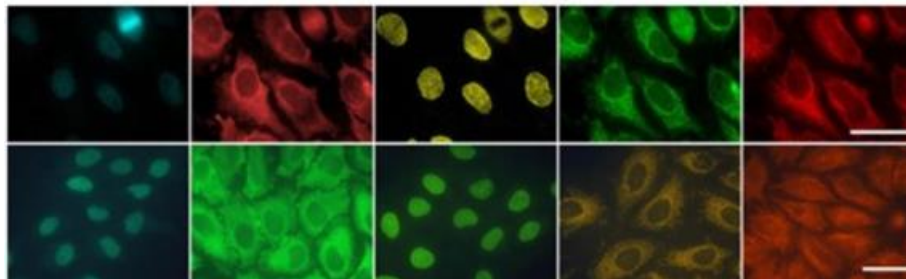


**Εικόνα 2.8.1:** Βιοϊατρικές εφαρμογές κβαντικών τελειών [3].

Πιο συγκεκριμένα, με τη χρήση κβαντικών τελειών είναι δυνατή η επισήμανση κυτταρικών δομών και κυτταρικών πρωτεϊνών. Η ποικιλία των χρωμάτων των κβαντικών τελειών δίνει τη δυνατότητα ταυτόχρονης χρώσης του πυρήνα και των μιτοχονδρίων, καθώς και άλλων κυτταρικών δομών. Επιπλέον, η



μετακίνηση βιομορίων στο εσωτερικό ενός κυττάρου μπορεί να παρακολουθείται με τη χρήση των τελειών. Μια άλλη σημαντική εφαρμογή τους είναι η επισήμανση πρωτεϊνών για τα καρκινικά κύτταρα και συμβάλλει στην κατανόηση μηχανισμών της πρωτεϊνικής δέσμευσης, σηματοδότησης και ρύθμισης.



**Εικόνα 2.8.2:** Βαμμένα κύτταρα με διάφορους ανιχνευτές κβαντικών τελειών-αντισωμάτων [38].

Η τεχνολογία γονιδίων είναι ακόμα ένα πεδίο στο οποίο φαίνεται χρήσιμη η εφαρμογή κβαντικών τελειών ως φορείς για τη μεταφορά γονιδίων, λόγω της μεγάλης επιφάνειας και τις σταθερές χημικές ιδιότητες τους. Το αρνητικό φορτίο των νουκλεϊκών οξέων καταστέλλεται από τα θετικά φορτισμένα πολυμερή ή λιποσώματα. Εφαρμόζονται στη γενετική, στην τεχνολογία DNA και RNA καθώς και στην ανίχνευσή τους. Υπάρχουν αρκετές αναφορές για τη στόχευση αλληλουχιών ολιγονουκλεοτιδίων, τα οποία συνδέονται με κβαντικές τελείες μέσω επιφανειακών καρβοξυλικών ομάδων, ώστε να γίνει πρόσδεση στο DNA ή στο mRNA. Επιπλέον, με χρήση διάφορων συνδυασμών χρωμάτων των κβαντικών τελειών μπορεί να επιτευχθεί η επισήμανση και ταυτοποίηση αλληλουχιών-στόχων του DNA.

Οι κβαντικές τελείες χρησιμοποιούνται, επίσης σε *in vivo* εφαρμογές απεικόνισης όπως είναι η βιοκατανομή τους, η αγγειακή απεικόνιση και η ανίχνευση κυττάρων (cell tracking). Κύτταρα που περιέχουν κβαντικές τελείες είναι δυνατό να χορηγηθούν σε ζωντανούς οργανισμούς για προσδιορισμό των

αρχικών κυττάρων αλλά και των απογόνων τους, καθώς τα νέα κύτταρα που προκύπτουν από την κυτταρική διαίρεση διατηρούν μέρος του φθορισμού.

Επιπλέον, οι κβαντικές τελείες έχουν ενδιαφέρουσα εφαρμογή στην ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών και τοξινών και για τον καθορισμό των χαρακτηριστικών τους, όπως η τοξικότητα, η ανίχνευση της οποίας είναι δυνατή με τον ανοσοφθορισμό των τελειών.

Σε σύγκριση με άλλες τεχνικές απεικόνισης όπως στην τομογραφία εκπομπής φωτονίου (PET), μαγνητική τομογραφία (MRI), φθορισμό κ.ά, η απεικόνιση χρησιμοποιεί λιγότερο επικίνδυνες και μη ιονίζουσες ακτινοβολίες. Η απεικόνιση ιστού μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας κβαντικές τελείες ρυθμίζοντας το μέγεθος και τη σύνθεσή τους. Μπορούν να συντονιστούν τα μήκη κύματος εκπομπής φωτοφωταύγειας (PL) των QD σε όλο το εύρος του εγγύς υπέρυθρου (NIR) και αυτό το φασματικό εύρος δίνει σχετικά χαμηλό συντελεστή απορρόφησης του νερού και της αιμοσφαιρίνης.

Επιπροσθέτως, χάρη στις μοναδικές φωτοφυσικές ιδιότητες τους, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φωτοευαίσθητοποιητές για την έγκαιρη διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου, μέσω της φωτοδυναμικής θεραπείας. Συζευγμένες με κατάλληλους υποκαταστάτες στόχευσης αποτελούν χρήσιμους παράγοντες για την *in vivo* στόχευση και απεικόνιση όγκων, της αγγείωσης και των μεταστάσεών τους.

Τέλος, πολύ σημαντικές αποτελούν και οι «θεραπευτικές» εφαρμογές των κβαντικών τελειών. Με αυτό τον όρο περιγράφονται οι διαγνωστικές και θεραπευτικές εφαρμογές, ενσωματώνοντας και την αξιολόγηση της μεταφοράς φαρμάκων. Η ειδική στόχευση κυττάρων και η επακόλουθη πρόσληψη αποτελούν μια επιτυχημένη θεραπευτική εφαρμογή. Μέσω των τελειών είναι εφικτή η απεικόνιση και η παρακολούθηση των κυττάρων-στόχων, στοχεύοντας στην αποτελεσματική θεραπεία ασθενειών όπως ο καρκίνος, αλλά και οι φλεγμονές. Η μείωση του μεγέθους τους με την αύξηση της επιφάνειάς τους είναι μια σημαντική ιδιότητα που τις κάνει χρήσιμες στις θεραπευτικές εφαρμογές [3, 36, 39-41].

## 2.9 Τρόποι παρασκευής κβαντικών τελειών

Διαχρονικά έχουν προταθεί πολλοί τρόποι παρασκευής των κβαντικών τελειών, φυσικοί και χημικοί.

### Φυσικές μέθοδοι

Μια από αυτές τις μεθόδους είναι η χάραξη. Αρχικά, η επιφάνεια του δείγματος (GaAs) η οποία περιέχει κβαντικά πηγάδια καλύπτεται με πολυμερική μάσκα και ακτινοβολείται με δέσμη ηλεκτρονίων ή ιόντων. Στη συνέχεια αφαιρείται η μάσκα και όλη η επιφάνεια του δείγματος καλύπτεται από ένα λεπτό μεταλλικό στρώμα. Έπειτα, με τη χρήση κατάλληλου διαλύματος η πολυμερική ταινία και το προστατευτικό μεταλλικό στρώμα αφαιρούνται, εξασφαλίζοντας έτσι την καθαρή επιφάνεια του δείγματος. Το μεταλλικό στρώμα παραμένει στις περιοχές οι οποίες έχουν ακτινοβοληθεί. Ακολουθεί χημική χάραξη των τμημάτων που δεν καλύπτονται από τη μεταλλική μάσκα και δημιουργούνται έτσι λεπτές στήλες που περιέχουν τα κομμένα κομμάτια των κβαντικών πηγαδιών.

Μια άλλη μέθοδος είναι αυτή με το διαμορφωμένο ηλεκτρικό πεδίο. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στη δημιουργία μικροσκοπικών ηλεκτροδίων στην επιφάνεια του κβαντικού πηγαδιού. Με κατάλληλη διαφορά δυναμικού στα ηλεκτρόδια, παράγεται ένα χωρικά διαμορφωμένο ηλεκτρικό πεδίο το οποίο περιορίζει τα ηλεκτρόνια μέσα σε μια μικρή περιοχή. Δηλαδή διαμορφώνεται η απόσταση ανάμεσα στο ηλεκτρόδιο και στην επιφάνεια του κβαντικού πηγαδιού και έτσι τα ηλεκτρόνια περιορίζονται σε μικρές περιοχές.

Η μέθοδος της διάχυσης ανάμεσα στο φράγμα και στο κβαντικό πηγάδι βασίζεται στη χρήση ακτινών laser μέσω των οποίων θερμαίνεται τοπικά το δείγμα. Σαν αρχικό υλικό θεωρείται το κβαντικό πηγάδι GaAs μεγέθους 3 nm το οποίο έχει παρασκευαστεί με τη μέθοδο επιταξίας μοριακής δέσμης. Με τοπική θέρμανση του δείγματος χρησιμοποιώντας laser, διαμορφώνεται το ενεργειακό χάσμα στο κβαντικό πηγάδι. Σε θερμοκρασία 1000 °C παρατηρείται γρήγορη διάχυση ατόμων Αργιλίου (Al) και Γαλλίου (Ga) ανάμεσα στο πηγάδι και στα φράγματα. Η διάχυση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φράγματος δυναμικού το οποίο περιβάλλει το μη φωτιζόμενο εσωτερικό του ορθογωνίου.

Επιπλέον, είναι και η μέθοδος της επιλεκτικής ανάπτυξης μιας αγώγιμης ένωσης με χρήση μιας μάσκας  $\text{SiO}_2$  και χαράσσοντας πάνω σε αυτή μικροσκοπικά τρίγωνα. Στην επιφάνεια που δεν είναι καλυμμένη με μάσκα η ανάπτυξη πραγματοποιείται με τη μέθοδο της μεταλλο-οργανικής εναπόθεσης χημικών ατμών MOCVD που έχει αναφερθεί και πιο πριν, σε θερμοκρασία από 700 μέχρι 800 °C. Με τη μέθοδο αυτή παίρνουμε κβαντικές τελείες με διάμετρο που κυμαίνεται από 70 έως 300 nm.

Τέλος, υπάρχει και η μέθοδος με την αυτό-οργανωμένη ανάπτυξη των κβαντικών τελειών, η οποία δεν απαιτεί χρήση μάσκας. Όταν η πλεγματική σταθερά του υποστρώματος και του υλικού που βρίσκεται υπό κρυστάλλωση διαφέρουν σημαντικά, το υλικό εναποθέτει παραμορφωμένες στοιβάδες που έχουν ίδια πλεγματική σταθερά με το υπόστρωμα. Όταν το κρίσιμο πάχος ξεπεραστεί, η στοιβάδα παραμορφώνεται σημαντικά και τότε η κατασκευή καταρρέει και δημιουργούνται αυθόρμητα συμμετρικής μορφής νησίδες με τυχαία κατανομή.

### **Χημικές μέθοδοι**

Η σύνθεση κolloειδών κβαντικών τελειών γίνεται με χημικές μεθόδους μέσω της αυτοσυσσωμάτωσης. Η αυτοσυσσωμάτωση λαμβάνει χώρα σε μεθόδους φάσης ατμών και 'υγρής' χημείας. Κατά τις μεθόδους υγρής χημείας συμβαίνει, κατά κύριο λόγο, καταβύθιση με έλεγχο των παραμέτρων του διαλύματος ή του μίγματος δαλυμάτων. Κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας των δειγμάτων, είναι σημαντικός ο έλεγχος του μεγέθους τους, του σχήματος τους, καθώς και των ιδιοτήτων της επιφάνειάς τους. Αυτά μπορούν να επιτευχθούν, μεταβάλλοντας, εν μέρει, κάποιες πειραματικές παραμέτρους όπως η συγκέντρωση των αντιδρώντων, η θερμοκρασία της αντίδρασης κ.ά.

Πολλά ημιαγώγιμα υλικά, όπως  $\text{CdS}$ ,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{CdSe}$ , μπορούν να παρασκευασθούν με υγρές κolloειδείς χημικές διεργασίες. Μια άλλη μέθοδος είναι μετατροπή κolloειδούς διαλύματος σε πήκτωμα (sol-gel). Αποτελεί μία τεχνική η οποία μπορεί να οδηγήσει στην παρασκευή πηκτωμάτων υάλων καθώς και κεραμικών υλικών. Η τεχνική συνίσταται στην παρασκευή ενός λύματος (sol) το οποίο με την πάροδο του χρόνου μετασχηματίζεται σε

πήκτωμα μέσω διαφόρων αντιδράσεων, μεταξύ πρόδρομων οργανικών ή ανόργανων ουσιών, των οξειδίων και οργανικών διαλυτών/νερό. Για παράδειγμα, με αυτή τη μέθοδο έχουν παρασκευασθεί νανοσωματίδια CdS μεγέθους 2-10 nm [42].



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Αλληλεπίδραση νανοσωματιδίων με βιολογικά συστήματα

#### 3.1 Συστήματα μεταφοράς φαρμάκων

Οι εφαρμογές στη θεραπεία του καρκίνου περιλαμβάνουν τη βιοαπεικόνιση όγκων, τη διάγνωση έγκαιρης ανίχνευσης, τη στοχευμένη θεραπεία και τη βιοπληροφορική του καρκίνου. Οι συνδυασμοί διαγνωστικών και θεραπευτικών εφαρμογών που βασίζονται σε νανοϋλικά επιτρέπουν την αποτελεσματικότερη διαχείριση ασθενών. Για την ανάπτυξη στοχευμένων νανοσυστημάτων και συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων κατά του καρκίνου, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα νανοϋλικά όπως διάφορες πρωτεΐνες, ένζυμα, συνένζυμα, νουκλεϊκά οξέα, νανοσωματίδια χρυσού, μαγνητικά νανοσωματίδια, κβαντικές τελείες, πολυμερικά και λιπιδικά νανοσωματίδια, νανοσωλήνες άνθρακα καθώς και δενδριμερή.

Τα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων έχουν την ικανότητα της ασφαλούς μεταφοράς μιας φαρμακευτικής ουσίας, συνδυάζοντας νανοϋλικά με βιοενεργά μόρια ή φάρμακα, τα οποία σε διαφορετική περίπτωση θα είχαν ανεπαρκή ή μη επιθυμητά φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά ή θα ήταν τοξικά. Ο ακριβής έλεγχος των διαφόρων παραμέτρων της δράσης ενός φαρμάκου μπορεί να γίνει μέσω τεχνικών όπως είναι η φαρμακοκινητική, η βιοδιαθεσιμότητα, η στοχευμένη μεταφορά και απελευθέρωση του φαρμάκου, η μη ειδική τοξικότητα και η βιοσυμβατότητα. Τα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων επιδεικνύουν αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις κλασσικές θεραπευτικές προσεγγίσεις διαφόρων ασθενειών και έχουν αρχίσει να εφαρμόζονται όλο και περισσότερο.

Ένα αποτελεσματικό σύστημα μεταφοράς φαρμάκων πρέπει να μπορεί να μιμηθεί ένα *in vivo* φυσιολογικό σύστημα και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τοπική ή συστηματική χορήγηση. Ωστόσο, ανάλογα με την εφαρμογή για την οποία προορίζονται μπορούν να υποστούν περαιτέρω τροποποιήσεις όσον αφορά την υδροφιλικότητα ή λιποφιλικότητα, τη συνάφεια με το φάρμακο, τη βιοδιαθεσιμότητα, τη βιοσυμβατότητα και το μέγεθος [2, 43, 44].

### 3.1.1 pH ευαίσθητα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων

Ανάμεσα στα διαφορετικά είδη νανοσωματιδίων που έχουν μελετηθεί για μεταφορά φαρμάκων τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα για τη θεραπεία των καρκινικών όγκων είναι τα pH –ευαίσθητα νανοσωματίδια. Είναι γνωστό ότι οι τιμές του pH διαφέρουν σημαντικά στους ιστούς και στα όργανα, όπως το στομάχι, το ήπαρ καθώς και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως στη φλεγμονή και στον καρκίνο. Η μεταβολή στην τιμή του pH σχετίζεται με τις παθολογικές καταστάσεις, ενώ χρησιμοποιείται στην απελευθέρωση του φαρμάκου σε συγκεκριμένο όργανο.

Πολλά συστήματα μεταφοράς αντικαρκινικών φαρμάκων εκμεταλλεύονται τη διαφορά στις τιμές του pH μεταξύ των υγιών ιστών και του εξωτερικού περιβάλλοντος των καρκινικών όγκων. Εξαιτίας της γλυκολυτικής πορείας στα καρκινικά κύτταρα, το pH των όγκων είναι μικρότερο από αυτό των φυσιολογικών ιστών. Συγκεκριμένα, οι όγκοι παρουσιάζουν εξωκυτταρικά εύρος τιμών pH 5-8, ενώ το pH των υγιών ιστών είναι κοντά στο 7. Ωστόσο, μεγαλύτερες διαφορές στις τιμές του pH παρατηρούνται στο εσωτερικό των κυττάρων.

Αυτές τις μεταβολές στο pH εκμεταλλεύονται αρκετά είδη συστημάτων για μεταφορά φαρμάκων, καθώς εισέρχονται στο κύτταρο μέσω ενδοκύτωσης και στη συνέχεια απελευθερώνουν το φάρμακο που μεταφέρουν στο ενδόσωμα ή στο λυσόσωμα.

Για την αποτελεσματική μεταφορά των αντικαρκινικών φαρμάκων τα pH-ευαίσθητα νανοσωματίδια σταθεροποιούν και αποθηκεύουν το φάρμακο σε φυσιολογικές τιμές pH, αλλά απελευθερώνουν ταχύτατα το φάρμακο σε όξινο pH, ώστε η ενδοκυτταρική συγκέντρωση του φαρμάκου να μην υπερβεί την καθορισμένη θεραπευτική δόση.

Τα pH-ευαίσθητα πολυμερή είναι ένα είδος πολυηλεκτρολυτών με ιοντίζουσες χημικές ομάδες. Όταν το pH ή η ιοντική ισχύς του υδατικού μέσου αλλάξει, τα πολυμερή ιοντίζονται και αλλάζει τη διαμόρφωσή τους.

Τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα pH-ευαίσθητα πολυμερή είναι αυτά που περιλαμβάνουν καρβοξυλικά οξέα στη δομή τους όπως πολυακρυλικό οξύ



(polyacrylic acid-PAA), πολυμεθακρυλικό οξύ (polymethacrylic acid-PMAA), πολυαιθυλεν-ακρυλικό οξύ (Polyethylene-acrylic acid-PEAA), πολυπρότυλ ακρυλικό οξύ (Poly(propyl acrylic acid- PPAA)), πολυδιαίθυλ-αμινοαίθυλ ακρυλικός εστέρας (poly(diethylaminoethyl methacrylate)-PDEAEM), πολυδιμεθυλ-αμινοαίθυλ-μεθακρυλικός εστέρας (Poly N,N-Dimethylaminoethyl-Methacrylate-PDMAEMA), πολυβουταδιένιο ακρυλικό οξύ (polybutadiene-acrylic acid-PBAA), πολυισοπρότυλακρυλαμίδι και πολυγλυκολικό οξύ (polyglycolic acid-PGA). Σε όξινες συνθήκες τα πολυμερή αυτά πρωτονιόνονται και γίνονται υδρόφοβα. Αντίθετα, σε ουδέτερο ή βασικό pH είναι υδρόφιλα [45-47].

### **3.2 Στρατηγικές στόχευσης**

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχουν πολλές διαφορετικές προσεγγίσεις για συγκεκριμένη στόχευση των θεραπευτικών και διαγνωστικών παραγόντων που επιτρέπουν την άμεση μεταφορά του φαρμάκου στην πάσχουσα περιοχή. Αυτές διακρίνονται στην ενεργή και την παθητική στόχευση.

#### **Ενεργή στόχευση**

Το ίδιο το σύστημα στόχευσης φέρει μια κατευθυντήρια μονάδα, όπως για παράδειγμα ένα αντίσωμα, ένα πεπτίδιο, έναν υδατάνθρακα, κ.ά., η οποία αναγνωρίζεται από ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης του ιστού-στόχου και έτσι επιτυγχάνεται η είσοδος τους στο κύτταρο, όπου και εναποθέτουν τη φαρμακευτική ουσία. Παρόλα αυτά, είναι ένα δύσκολο μονοπάτι γιατί είναι δύσκολο να υπάρξουν εξειδικευμένες και μη ανοσολογικές κατευθυντήριες μονάδες. Αυτή η στόχευση έχει αποδειχθεί αποτελεσματική *in vitro* και ως ένα βαθμό *in vivo*.

#### **Παθητική στόχευση**

Η παθητική στόχευση βασίζεται στα διαφορετικά χαρακτηριστικά των υγιών και παθολογικών κυττάρων για την επιτυχή μεταφορά των ουσιών. Χαρακτηριστικό

παράδειγμα είναι το φαινόμενο ενισχυμένης διαπερατότητας και κατακράτησης (EPR - Enhanced Permeability and Retention Effect), το οποίο αποτελεί τη βάση παθητικής μεταφοράς στα καρκινικά κύτταρα. Σε αυτή την περίπτωση, τα νανοσωματίδια που εφαρμόζονται στο κυκλοφορικό σύστημα χρειάζεται να εξαγγειωθούν μέσω των αγγειακών τοιχωμάτων ώστε να συγκεντρωθούν στον ιστό-στόχο όπου και θα απελευθερώσουν το μεταφερόμενο φάρμακο. Τα πιο μεγάλα μόρια δεν μπορούν να διεισδύσουν εξαιτίας των πολύ στενών συνδέσεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων του φυσιολογικού αγγειακού δικτύου. Στην περίπτωση των καρκινικών κυττάρων όμως, μεταξύ των κυττάρων του αγγειακού δικτύου υπάρχουν κενά διαστήματα μέσα από τα οποία μπορούν να περάσουν αποτελεσματικά τα νανοσωματίδια. Επιπλέον, το δυσλειτουργικό λεμφικό δίκτυο των καρκινικών κυττάρων οδηγεί στην αναποτελεσματική απομάκρυνση των νανοσωματιδίων, γεγονός που βοηθάει στη συσσώρευση αυτών στους καρκινικούς ιστούς [46, 48-50].

### **3.2.1 Μηχανισμοί ενεργητικής διέλευσης των κυτταρικών μεμβρανών**

Ως ενεργητικούς μηχανισμούς χαρακτηρίζουμε τη διευκολυνόμενη διάχυση, την ενεργητική μεταφορά και την ενδοκύτωση.

#### **Διευκολυνόμενη διάχυση**

Τον μηχανισμό αυτό τον ακολουθούν κυρίως υδατάνθρακες, αμινοξέα καθώς επίσης και τα φάρμακα που είναι παράγωγά τους. Απαιτείται κατανάλωση ενέργειας από το κύτταρο καθώς δεν ακολουθείται η βαθμίδα της συγκέντρωσης και είναι απαραίτητη η παρουσία ενός ειδικού μεμβρανικού φορέα όπου θα μεταφέρει την ουσία στο εσωτερικό του.

#### **Ενεργητική μεταφορά**

Αυτός ο μηχανισμός απαιτεί ενέργεια, η οποία προσφέρεται συνήθως δια μέσου του ενζύμου  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ , παρόλο που πάντα ακολουθείται η βαθμίδα συγκέντρωσης του φαρμάκου. Είναι απαραίτητη η παρουσία ενός λιποδιαλυτού μορίου στη μεμβράνη το οποίο θα δράσει ως υποδοχέας και ως φορέας για το φάρμακο. Κάθε φορά που μεταφέρει μια ουσία στο εσωτερικό του κυττάρου, ο

φορέας ελευθερώνεται και ξαναγυρίζει στην εξωτερική επιφάνεια για να παραλάβει εκ νέου κάποια άλλη ουσία. Αποτελεί σημαντικό μηχανισμό απορρόφησης, για περιπτώσεις υδατοδιαλυτών φαρμάκων, ιδιαίτερα στο εντερικό επιθήλιο.

### **Ενδοκύτωση**

Ονομάζεται και πινοκύτωση ή φαγοκύτωση (όταν η μεταφερόμενη ουσία είναι στερεά και μεγαλύτερη από 500 nm). Αποτελεί πολύπλοκο μηχανισμό, που απαιτεί πρόσδοση ενέργειας. Αφορά την απορρόφηση μεγάλων μορίων, κυρίως πρωτεϊνικής φύσης και αποτελεί ίσως τον κυρίαρχο μηχανισμό με τον οποίο τα νανοσωματίδια εισέρχονται στην εσωτερική επιφάνεια του κυττάρου. Ο μηχανισμός αυτός αποτελείται από το στάδιο της εγκόλπωσης της ουσίας στον εξωκυτταρικό χώρο, από ένα μικρό τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης καθώς επίσης και από το στάδιο της αποκοπής του τμήματος αυτού με την εισαγωγή της ουσίας μέσα στο κύτταρο. Οι διάφορες τροποποιήσεις της επιφάνειας των νανοσωματιδίων μπορεί να οδηγήσουν σε προσκόλληση αυτών, στον υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης και έτσι να σταματήσουν την είσοδό τους στο κύτταρο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελεί η απομάκρυνση νανοσωματιδίων με φαγοκύτωση, από μακροφάγα, στους πνεύμονες.

### **3.2.2 Μηχανισμοί παθητικής διέλευσης των κυτταρικών μεμβρανών**

Ως παθητικούς χαρακτηρίζουμε τη διάχυση και τη διήθηση. Αποτελεί τον σημαντικότερο τρόπο με τον οποίο η πλειοψηφία των φαρμάκων εισέρχεται στο κύτταρο.

#### **Διάχυση**

Αποτελεί το πιο κοινό τρόπο διακίνησης μορίων δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών χωρίς να απαιτείται πρόσδοση ενέργειας. Επειδή η σταθερά διάχυσης στην περίπτωση των μεμβρανών, εξαρτάται από τη θερμοκρασία, το μοριακό βάρος, τη μοριακή δομή, τη λιποδιαλυτότητα και το βαθμό ιονισμού συμπεραίνεται ότι και ο μηχανισμός της διάχυσης θα εξαρτάται άμεσα από

αυτούς τους παράγοντες. Συγκεκριμένα, ουσία με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 1000, δύσκολα διαχέεται δια μέσου των μεμβρανών. Επιπλέον, η διάχυση ανάλογη με τη λιποδιαλυτότητα και αντιστρόφως ανάλογη με το βαθμό διάστασης του μορίου.

### **Διήθηση**

Σύμφωνα με τον μηχανισμό της διήθησης, υδατοδιαλυτές ουσίες διέρχονται μέσα από τους πόρους της μεμβράνης λόγω της βαθμίδας υδροστατικής ή ωσμωτικής πίεσης. Επιπλέον, μη λιποδιαλυτά φάρμακα μικρού μοριακού βάρους παρασυρόμενα από το υπάρχον νερό μπορούν να ακολουθήσουν τον συγκεκριμένο μηχανισμό και να διέλθουν δια μέσου των υδατικών πόρων των μεμβρανών. Ανόργανοι και οργανικοί διαλύτες διέρχονται επίσης, με διήθηση μέσω των βιολογικών μεμβρανών. Γενικά, ο συγκεκριμένος μηχανισμός εξαρτάται κυρίως από τη διαφορά υδροστατικής πίεσης μεταξύ του εξωτερικού και εσωτερικού διαμερίσματος, το πάχος της μεμβράνης, τον αριθμό των πόρων και το τυχόν ηλεκτρικό φορτίο τους [51, 52].

### **3.3 Πολυμερή**

Τα μεγάλα μόρια των πολυμερών, δημιουργούνται από απλά μόρια, τα μονομερή, τα οποία αποτελούν την επαναλαμβανόμενη μονάδα και ενώνονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς και σχηματίζουν τις χαρακτηριστικές μακριές αλυσίδες του πολυμερούς. Τα πολυμερή, λαμβάνονται μέσω χημικών διαμοριακών αντιδράσεων μεταξύ των μονομερών. Ανάλογα με τη σύσταση της αλυσίδας, τα πολυμερή διαχωρίζονται στα ομοπολυμερή και στα συμπολυμερή. Αντίστοιχα, οι αντιδράσεις οι οποίες πραγματοποιούνται είναι ο πολυμερισμός και ο συμπολυμερισμός.

Οι ιδιότητες των πολυμερών εξαρτώνται από τη φυσική και χημική δομή του επαναλαμβανόμενου μονομερούς, τις συνθήκες παραγωγής του, το μήκος της μοριακής αλυσίδας, και το μοριακό του βάρος.

Τα συμπολυμερή γενικά αποτελούνται από δύο ή περισσότερα είδη δομικών μονάδων, τα οποία διακρίνονται σε:

- Συνήθη συμπολυμερή, που αποτελούνται από μικρά ομοπολυμερή τμήματα και υποδιαιρούνται σε:

- α) Τυχαία συμπολυμερή, στα οποία οι δομικές μονάδες εναλλάσσονται τυχαία.

- β) Εναλλασσόμενα συμπολυμερή, στα οποία οι διαφορετικές δομικές μονάδες εναλλάσσονται στην αλυσίδα μια προς μία.

- Αδρομερή συμπολυμερή, τα οποία αποτελούνται από μεγάλα ομοπολυμερή τμήματα, που συνδέονται κατά μήκος της αλυσίδας.

- Εμβολιασμένα συμπολυμερή, τα οποία αποτελούνται από ένα βασικό κορμό ομοπολυμερούς, από τον οποίο αναπτύσσονται διακλαδώσεις από ομοπολυμερή τμήματα του άλλου είδους δομικών μονάδων [53].

### **3.4 Πολυμερισμός**

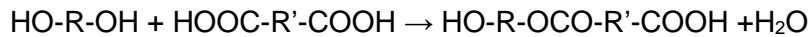
Ο πολυμερισμός είναι μία διαδικασία κατά την οποία τα μονομερή αντιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας τα πολυμερή. Οι μηχανισμοί αντιδράσεων οι οποίοι διέπουν έναν πολυμερισμό ποικίλουν εξαιτίας των δραστικών ομάδων που υπάρχουν στα αντιδραστήρια και των έμφυτων στερικών φαινομένων (steric effects).

Οι αντιδράσεις πολυμερισμού διακρίνονται σε δυο κατηγορίες με βάση την κινητική της αντίδρασης, στις αντιδράσεις σταδιακού πολυμερισμού και στις αντιδράσεις αλυσωτού πολυμερισμού.

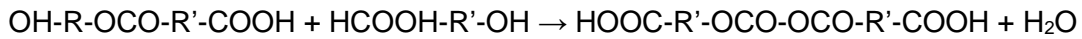
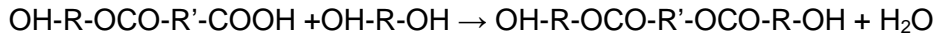
#### **3.4.1 Σταδιακός πολυμερισμός**

Ο σταδιακός πολυμερισμός ή πολυσυμπύκνωση είναι μια πολύ αργή αντίδραση που πραγματοποιείται μεταξύ ανεξάρτητων μονομερών, η οποία συνοδεύεται από απόσπαση παραπροϊόντος (νερό ή αμμωνία). Οι αντιδράσεις σταδιακού πολυμερισμού διακρίνονται σε άμεσες, στις οποίες οι δραστικές ομάδες των μονομερών βρίσκονται ελεύθερες πριν αντιδράσουν μεταξύ τους και στις έμμεσες, στις οποίες οι δραστικές ομάδες είναι δεσμευμένες.

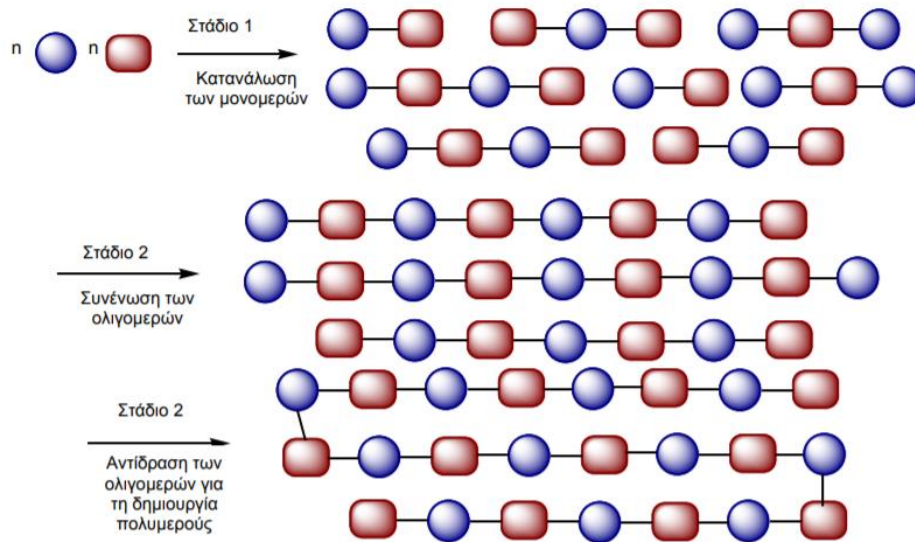
Αρχικά, σχηματίζονται τα ολιγομερή μέσω της αντίδρασης δύο μονομερών:



Στη συνέχεια, σχηματίζεται το διμερές και έπειτα το τριμερές, αντιδρώντας είτε με τη διόλη είτε με το δικαρβόξυλικό οξύ:



Επιπλέον, δυο διμερή αντιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα τετραμερές:



**Εικόνα 3.4.1:** Σχηματική απεικόνιση σταδιακού πολυμερισμού [54]

### 3.4.2 Αλυσωτός πολυμερισμός

Στον αλυσωτό πολυμερισμό ή αλλιώς στον πολυμερισμό προσθήκης πραγματοποιείται η συνένωση μορίων με διπλούς ή τριπλούς δεσμούς. Απαιτεί την ύπαρξη ενός ενεργού κέντρου, όπως είναι μια ελεύθερη ρίζα, ένα κατιόν ή ένα ανιόν. Η προσθήκη επιτυγχάνεται μέσω διανοίξεως του διπλού ή τριπλού δεσμού τον οποίο φέρουν στο μόριό τους τα μονομερή. Στον αλυσωτό πολυμερισμό το πρώτο μόριο συνδέεται με το δεύτερο, το δεύτερο με το τρίτο κ.ο.κ., δημιουργώντας έτσι μία μεγαλύτερη αλυσίδα πολυμερούς. Μία ειδική περίπτωση του πολυμερισμού προσθήκης είναι ο «ζωντανός» πολυμερισμός

(living polymerization). Στον αλυσωτό πολυμερισμό ο χρόνος της αντίδρασης επηρεάζει μόνο την έκταση της αντίδρασης.

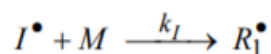
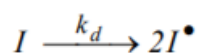
Ο αλυσωτός μηχανισμός ή η πολυπροσθήκη αποτελεί μια γρήγορη αντίδραση που αποτελείται από τις παρακάτω φάσεις.

- Έναρξη
- Διάδοση
- Τερματισμός

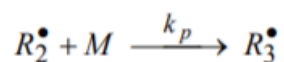
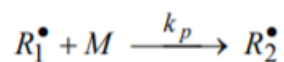
Το πρώτο στάδιο του πολυμερισμού είναι η έναρξη. Η έναρξη πολυμερισμού μπορεί να γίνει με τη βοήθεια των απαρχητών (initiators) που δίνουν ελεύθερες ρίζες οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη φάση της διάδοσης της αλυσίδας. Σε αυτή τη φάση, προστίθενται τα μόρια του μονομερούς με μεγάλη ταχύτητα, στις ρίζες που δημιουργήθηκαν στο προηγούμενο στάδιο. Τα προϊόντα που δημιουργούνται είναι ασταθή και μπορεί εύκολα να σπάσουν σε δύο ρίζες.

Το τρίτο και τελευταίο στάδιο είναι ο τερματισμός και συμβαίνει όταν μία ρίζα αντιδρά με τέτοιο τρόπο ώστε να σταματάει η ανάπτυξη της αλυσίδας. Η πιο συνήθης μέθοδος είναι η συνένωση, όπου δύο ρίζες ενώνονται και σχηματίζουν ένα μόριο. Μια άλλη μέθοδος τερματισμού αποτελεί η ανακατανομή, στην οποία οι δύο ρίζες ανταλλάσσουν ένα πρωτόνιο το οποίο δίνει δύο αλυσίδες τερματισμού, εκ των οποίων η μία είναι κορεσμένη και η άλλη έχει έναν τερματικό διπλό δεσμό. Παρακάτω, φαίνονται τα στάδια μιας τυπικής αντίδρασης ριζικού πολυμερισμού.

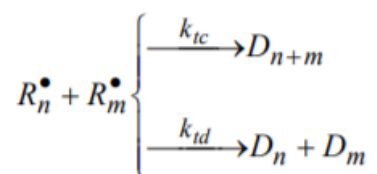
Έναρξη:



Διάδοση:



Τερματισμός με συνένωση / ανακατανομή:



Οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται συνήθως στις αντιδράσεις πολυμερισμού ελεύθερων ριζών είναι το αζω-ισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN) ή το βενζοϋλοϋπεροξειδίο (BPO) και το υπερθειικό κάλιο. Αυτές οι ενώσεις περιέχουν έναν ασθενή δεσμό ο οποίος διασπάται με την αύξηση της θερμοκρασίας, δίνοντας τις αρχικές ρίζες για την έναρξη του πολυμερισμού. Στη συνέχεια οι ρίζες αντιδρούν με τα μονομερή, μέσω της αντίδρασης προόδου και τελικά αντιδρούν μεταξύ τους, μέσω της αντίδρασης τερματισμού, δίνοντας τα μακρομόρια του πολυμερούς [54].



## ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η μελέτη και η σύνθεση υβριδικών νανοσωματιδίων και συγκεκριμένα πολυμερικών νανοδοχείων, εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες, για εφαρμογές διαγνωσοθεραπείας.

Η στρατηγική δυο σταδίων που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: 1) αρχικά παρασκευάστηκαν οι pH/θερμο-ευαίσθητες πολυμερικές νανοσφαίρες και 2) εμπλουτίστηκαν με κβαντικές τελείες. Η δημιουργία αυτού του υβριδικού νανοϋλικού, αναμένεται να βρει χρήση σε μια ποικιλία *in vivo* και *in vitro* βιολογικών εφαρμογών.

Απώτερος σκοπός αυτής της διπλωματικής ήταν η μελέτη της δομής, της μορφολογίας και των ιδιαίτερων ιδιοτήτων που παρουσιάζουν τόσο οι κβαντικές τελείες και οι πολυμερικές νανοσφαίρες, όσο και τα υβριδικά νανοσωματίδια που σχηματίζονται μέσω αυτών.

Δυο εξίσου σημαντικές παράμετροι που εξετάζεται στη παρούσα εργασία, είναι η αιμοσυμβατότητα και η κυτταροτοξικότητα των υβριδικών νανοσωματιδίων, καθώς κρίνεται απαραίτητη, δεδομένου της βιολογικής εφαρμογής για την οποία προορίζονται.



## **B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### Τεχνικές χαρακτηρισμού και υλικά

#### 4.1 Δομή, μορφολογία και ιδιότητες των νανοσωματιδίων

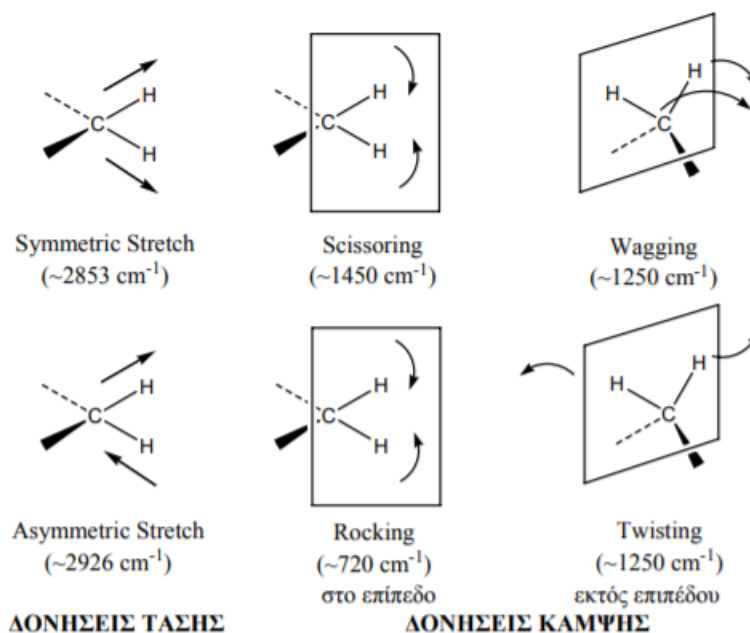
Τα νανοσωματίδια μπορούν να χαρακτηριστούν τόσο δομικά όσο και μορφολογικά με πολλές ειδικές τεχνικές. Ο δομικός χαρακτηρισμός πραγματοποιήθηκε μέσω της τεχνικής περίθλασης ακτινών-Χ και τη φασματοσκοπία υπέρυθρου (FT-IR), ενώ ο μορφολογικός πραγματοποιείται με την ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM), και την ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM). Ο χαρακτηρισμός της υδροδυναμικής διαμέτρου νανοσωματιδίων, καθώς και το επιφανειοδραστικό φορτίο καθορίζεται από τη δυναμική σκέδασης φωτός (DLS). Επιπλέον, τα νανοσωματίδια χαρακτηρίστηκαν με φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis), καθώς και με φασματοσκοπία φωτοφωταύγειας (PL), ενώ παρατηρήθηκαν, παρουσία μονιμοποιημένων κυττάρων σε μικροσκοπιο φθορισμού. Στην παρούσα εργασία έχουν εκπονηθεί όλοι οι παραπάνω χαρακτηρισμοί και ακολουθεί η ανάλυση αλλά και η επεξήγηση στις παρακάτω παραγράφους.

##### 4.1.1 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FT-IR)

Η υπέρυθρη φασματοσκοπία χρησιμοποιείται ευρύτατα κατά τη σύνθεση χημικών ενώσεων και για την πιστοποίηση της καθαρότητας τους. Είναι μία αναλυτική τεχνική, η οποία μετράει την ένταση της ακτίνας του υπέρυθρου σε σχέση με το μήκος κύματος του φωτός. Βασίζόμενοι στον κυματάριθμο, μπορούμε να κατηγοριοποιήσουμε το φως υπέρυθρου σε άπω υπέρυθρο ( $4\sim 400\text{ cm}^{-1}$ ), σε μέσο υπέρυθρο ( $400\sim 4.000\text{ cm}^{-1}$ ) και σε εγγύς υπέρυθρο ( $4.000\sim 14.000\text{ cm}^{-1}$ ). Για την άπω υπέρυθρη περιοχή του φάσματος χρησιμοποιούνται φασματοφωτόμετρα μετασχηματισμού Fourier. Εκεί, συνήθως μελετώνται ανόργανες ουσίες, καθώς οι απορροφήσεις από τις δονήσεις των δεσμών μεταξύ μετάλλων και ανόργανων ή οργανικών υποκαταστατών συμβαίνουν σε συχνότητες μικρότερες από  $650\text{ cm}^{-1}$ . Η φασματοσκοπία υπέρυθρου ανιχνεύει τα χαρακτηριστικά της δόνησης χημικών

λειτουργικών ομάδων σε ένα δείγμα. Όταν το υπέρυθρο φως αλληλεπιδράσει με την ύλη, οι χημικοί δεσμοί θα ταλαντωθούν, θα έρθουν σε επαφή και θα λυγίσουν. Σαν αποτέλεσμα, μια χημική λειτουργική ομάδα αναμένεται να απορροφήσει την ακτινοβολία υπέρυθρου σε ένα συγκεκριμένο εύρος κυματάρθμων ανεξάρτητα από τη δομή του υπόλοιπου μορίου.

Μετά την πρόσπτωση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ένα μόριο μπορεί να ταλαντωθεί με δύο βασικούς τρόπους οι οποίοι χαρακτηρίζονται ως δονήσεις τάσης (stretching) και δονήσεις κάμψης (bending). Η δόνηση τάσης χαρακτηρίζεται από μία συνεχή μεταβολή των αποστάσεων μεταξύ των ατόμων κατά μήκος του άξονα του δεσμού τους ενώ η δόνηση κάμψης χαρακτηρίζεται από αλλαγή στη γωνία μεταξύ δύο δεσμών και μπορεί να είναι τεσσάρων ειδών: ψαλιδοειδής (scissoring), κλυδωνιζόμενη (rocking), παλλόμενη (wagging), και συστρεφόμενη (twisting) [55].



**Εικόνα 4.1.1:** Δονήσεις τάσης και κάμψης των μοριακών δομών στην υπέρυθρη ακτινοβολία [55].

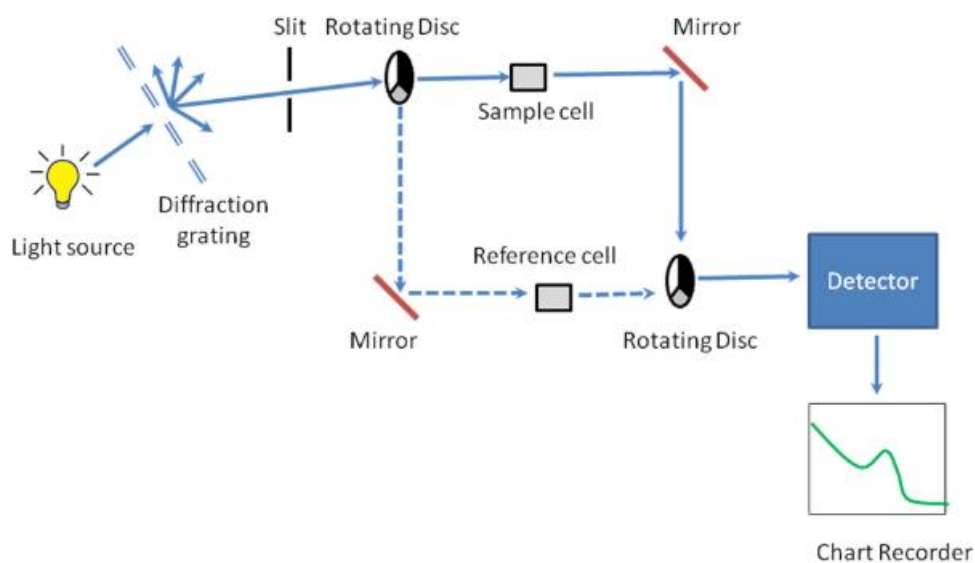
#### 4.1.2 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis)

Η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού στηρίζεται στη μέτρηση της διαπερατότητας (T), ή της απορρόφησης (A) διαλυμάτων που τοποθετούνται σε διαφανείς κυψελίδες συγκεκριμένης οπτικής διαδρομής. Τα μήκη κύματος που χρησιμοποιούνται ξεκινούν από τα 160 nm, όπου βρίσκεται η περιοχή του υπεριώδους, μέχρι και τα 780 nm, όπου βρίσκεται το όριο μεταξύ ορατού και εγγύς. Η απορρόφηση συνδέεται γραμμικά με τη συγκέντρωση (c) ενός διαλύματος που απορροφά, σύμφωνα με την εξίσωση:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc$$

όπου  $\epsilon$  είναι η γραμμομοριακή απορροφητικότητα,  $b$  είναι το μήκος διαδρομής της ακτινοβολίας,  $T$  η διαπερατότητα και  $P_0, P$  η ισχύς της ακτινοβολίας μετά τη διέλευσή της από την κυψελίδα που περιέχει τον διαλύτη και τον αναλυτή, αντίστοιχα.

Βασίζεται στην ικανότητα απορρόφησης φωτεινής ακτινοβολίας, της ορατής (400-780 nm) και υπεριώδους περιοχής (190-400 nm) από μόρια ευρισκόμενα στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων. Η απορρόφηση υπεριώδους-ορατής ακτινοβολίας, μπορεί να προκαλέσει μόνο ηλεκτρονικές διεγέρσεις, δηλαδή διεγέρσεις ηλεκτρονίων της στοιβάδας σθένους, που μεταβαίνουν από μια δεσμική σε μια αντιδεσμική κατάσταση, χωρίς να υπάρξει αλλαγή στον κύριο κβαντικό αριθμό. Η τεχνική αυτή είναι συμπληρωματική της φασματοσκοπίας φθορισμού, η οποία ασχολείται με τις μεταβάσεις από τη διεγερμένη κατάσταση στη βασική κατάσταση, ενώ η φασματοσκοπία απορρόφησης μέτρα μεταβάσεις από τη βασική στη διεγερμένη κατάσταση.



**Εικόνα 4.1.2:** Σχηματική αναπαράσταση ενός φασματοφωτόμετρου UV-Vis [56].

### 4.1.3 Φασματοσκοπία φωτοφωταύγειας (PL)

Ένα απλουστευμένο μοντέλο για τη φωτοφωταύγεια σε ένα ημιαγωγό περιλαμβάνει τα στάδια της διέγερσης, της χαλάρωσης και της επανασύνδεσης. Προσπίπτοντα φωτόνια αντλούν ηλεκτρόνια κατόπιν απορρόφησης από τη ζώνη σθένους στη ζώνη αγωγιμότητας, αφήνοντας πίσω μια οπή. Το ηλεκτρόνιο και η οπή χαλαρώνουν σε μια μικρότερη ενέργεια εντός της δομής των ζωνών, έως ότου φτάσουν στα άκρα των ζωνών. Κατά την αποβολή ενέργειας δεν ακτινοβολούνται φωτόνια, σε άλλους φορείς φορτίου. Η επανασύνδεση με εκπομπή φωτονίου είναι πιο πιθανή, λόγω του τεράστιου ενεργειακού χάσματος που δημιουργείται από αυτές τις διεργασίες. Σε ένα συμπαγές (bulk) υλικό η ενέργεια επανασύνδεσης είναι ίση με το ενεργειακό χάσμα μείον την ενέργεια του σχηματισμού εξιτονίου λόγω της αλληλεπίδρασης Coulomb μεταξύ ηλεκτρονίου και οπής.

Το ενεργειακό χάσμα σε κβαντικές τελείες είναι μικρότερο από ότι στο υλικό μήτρας. Αν η ενέργεια διέγερσης είναι μεγαλύτερη από το ενεργειακό χάσμα του υλικού της μήτρας, τότε τα ζεύγη ηλεκτρονίου-οπής δημιουργούνται σε αυτό. Τα ζεύγη αυτά είναι συζευγμένα και σχηματίζουν ένα εξιτόνιο, μέσω



αλληλεπίδρασης Coulomb. Πλησίον μιας από τις κβαντικές τελείες είναι δυνατόν ένα εξιτόνιο να παγιδευτεί και να εντοπιστεί. Η ζεύξη μεταξύ ηλεκτρονίου και οπής οφείλεται στην αλληλεπίδραση Coulomb αλλά και στον εντοπισμό του εξιτονίου εντός της κβαντικής τελείας.

Η ενέργεια επανασύνδεσης του εξιτονίου είναι συνάρτηση των κβαντισμένων καταστάσεων της τελείας. Είναι δυνατό περισσότερα εξιτόνια, ηλεκτρόνια ή οπές να εισέλθουν στην κβαντική τελεία από τη μήτρα. Τα αντίστοιχα συμπλέγματα σωματιδίων που προκύπτουν ονομάζονται δι-εξιτόνια, τρι-εξιτόνια. Οι ενέργειες επανασύνδεσης από τα ζεύγη ηλεκτρονίου-οπής, παρουσία των επιπλέον φορτισμένων σωματιδίων οδηγεί σε μικρές μεταβολές της ενέργειας ως προς αυτή του εξιτονίου.

Οι μέθοδοι φθορισμού και φωσφορισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μετρήσεις χαμηλότερων συγκεντρώσεων απ' ό,τι οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι, που βασίζονται σε μετρήσεις απορρόφησης και είναι κατά μία έως τρεις τάξεις μεγέθους από τις πιο ευαίσθητες αναλυτικές τεχνικές. Η φασματοσκοπία φωτοφωταύγειας μπορεί να μας δώσει πληροφορίες σχετικά με την ηλεκτρονική δομή, τον οπτοηλεκτρονικό χαρακτηρισμό ενός νανοδομημένου ημιαγωγού και ιδιότητες ενός υλικού. Επιπροσθέτως, η χρήση της τεχνικής αυτής σε χαμηλές θερμοκρασίες μπορεί να δώσει επιπλέον πληροφορίες για την ενέργεια σύνδεσης εξιτονίου [57].

#### **4.1.4 Περίθλαση Ακτίνων-X (X-Ray Diffraction, XRD)**

Η μέθοδος XRD ή αλλιώς Τεχνική Περίθλασης Ακτίνων-X είναι μία αναλυτική τεχνική η οποία μπορεί να δώσει ποιοτικές πληροφορίες ως προς τη δομή (θέση ατόμων, μορίων ή ιόντων στο χώρο) ενός κρυστάλλου. Επιπλέον, μας δίνει πληροφορίες σχετικά με τα κρυσταλλικά επίπεδα καθώς και τις διαστάσεις των μοναδιαίων κυψελίδων των κρυσταλλικών υλικών, διευκρινίζοντας μας αν είναι άμορφα κρυσταλλικά, ή όχι.

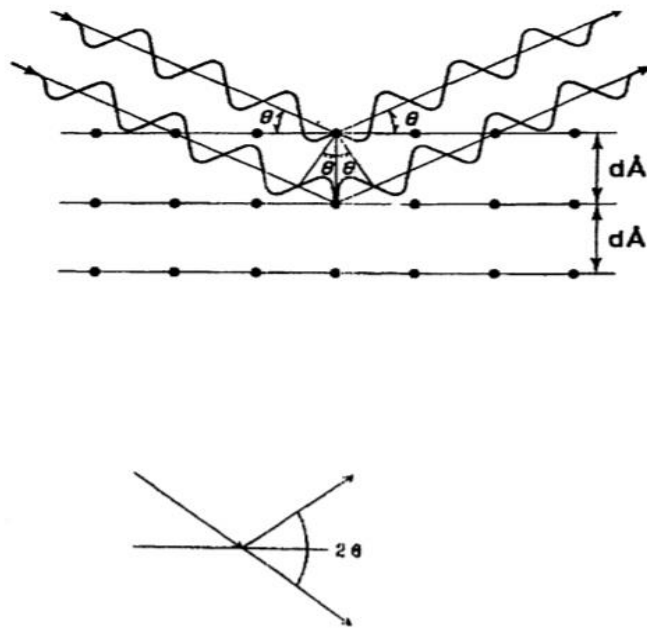
Η αρχή λειτουργίας της βασίζεται σε μία δέσμη ακτινών-X που προσπίπτει στην επιφάνεια ενός κρυστάλλου υπό γωνία  $\theta$ , ένα τμήμα αυτής σκεδάζεται από το επιφανειακό στρώμα των ατόμων (1ο πλεγματοειδές επίπεδο), ενώ το υπόλοιπο

αυτής εισέρχεται στο δεύτερο στρώμα (2ο πλεγματοειδές επίπεδο). Στο δεύτερο πλεγματοειδές επίπεδο, πάλι ένα μέρος της δέσμης σκεδάζεται, ενώ το υπόλοιπο διέρχεται αυτής και φτάνει στο τρίτο πλεγματοειδές επίπεδο και συνεχίζει. Πρόκειται λοιπόν, για ελαστική σκέδαση μονοχρωματικής ακτινοβολίας ακτινών-Χ, έναντι της γωνίας Bragg, όπου πραγματοποιείται η πρόσπτωση των ακτινών-Χ στον κρύσταλλο και παρατηρείται η μέγιστη αλληλεπίδραση.

Με τη μελέτη ενός γραφήματος XRD παίρνουμε πληροφορίες σχετικά με την κρυσταλλική δομή, σε ατομικό επίπεδο, του υπό μέτρηση δείγματος. Οι πληροφορίες περιέχονται από τον αριθμό και την ένταση των κορυφών που παράγονται κατά την περίθλαση σε συγκεκριμένες γωνίες  $\theta$ , σύμφωνα με την εξίσωση του Bragg, η οποία συνδέει το μήκος κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με τη γωνία περίθλασης και την απόσταση μεταξύ των χωροθετημένων κέντρων του κρυστάλλου:

$$2d\sin\theta=n\lambda$$

όπου,  $n$  σταθερός ακέραιος αριθμός που προσδιορίζει την τάξη της περίθλασης,  $\lambda$  το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας,  $\theta$  η γωνία σκέδασης και  $d$  η απόσταση μεταξύ των επιπέδων του κρυσταλλικού πλέγματος του δείγματος. Για να έχουμε περίθλαση, θα πρέπει οι αποστάσεις μεταξύ των στρωμάτων των ατόμων να είναι περίπου ίδιες με το μήκος κύματος ακτινοβολίας και τα κέντρα σκέδασης πρέπει να κατανέμονται στο χώρο με υψηλή κανονικότητα. Το φάσμα που λαμβάνεται είναι μοναδικό για κάθε κρυσταλλική ουσία, με αποτέλεσμα να θεωρείται βέβαιη η χημική ταυτοποίηση όταν τα φάσματα αυθεντικού και άγνωστου δείγματος ταυτίζονται [58, 59].



Εικόνα 4.1.3: Σχηματική αναπαράσταση του νόμου Bragg [58].

#### 4.1.5 Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS)

Με τη δυναμική σκέδαση φωτός μετρούνται μεγέθη σωματιδίων από 2 nm έως 2 μm. Η Δυναμική Σκέδαση Φωτός μετρά την κίνηση Brown και τη συσχετίζει με το μέγεθος των σωματιδίων. Η τεχνική βασίζεται στη σκέδαση (Rayleigh) μίας μονοχρωματικής ακτινοβολίας, από νανοσωματίδια τα οποία βρίσκονται σε ένα κολλοειδές αιώρημα. Τα νανοσωματίδια μέσα στο αιώρημα εκτελούν τυχαία και συνεχή κίνηση (κίνηση) εξαιτίας των πολλαπλών συγκρούσεων με τα μόρια του υγρού, τα οποία κινούνται λόγω της θερμικής τους ενέργειας. Χρήση μονοχρωματικής δέσμης λέιζερ, προκαλεί θερμικά εξαρτώμενες διακυμάνσεις στην ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, οι οποίες προέρχονται από την κίνηση Brown των νανοσωματιδίων σε διασπορά. Η σχέση μεταξύ του μεγέθους του σωματιδίου και της ταχύτητά του λόγω της κίνησης Brown ορίζεται η Stokes-Einstein εξίσωση:

$$DT = \frac{kbT}{2\pi n(T)dh}$$

όπου, DT είναι ο συντελεστής διάχυσης,  $k_b$  είναι η σταθερά του Boltzmann, T είναι η απόλυτη θερμοκρασία σε Kelvin (T), n είναι το ιξώδες του εναιωρήματος

το οποίο εξαρτάται ισχυρά από τη θερμοκρασία και  $d_h$  είναι η υδροδυναμική διάμετρος.

Το ζ-δυναμικό ενός κολλοειδούς διαλύματος νανοσωματιδίων περιγράφει τη διαφορά δυναμικού μεταξύ του μέσου διασποράς και της ρευστής ακινητοποιημένης στοιβάδας στην επιφάνεια των διεσπαρμένων νανοσωματιδίων. Η τιμή του ζ-δυναμικού μπορεί να δώσει πληροφορίες για τον κατά προσέγγιση προσδιορισμό της σταθερότητας ενός κολλοειδούς διαλύματος. Γενικά, αν η απόλυτη τιμή ζ δυναμικού είναι πάνω από 30 mV θεωρείται αρκετά σταθερό κολλοειδές. Η μέτρηση πραγματοποιείται με την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου παράλληλα με μια μέτρηση DLS καθορίζοντας έτσι την ηλεκτροφορητική κίνηση η οποία είναι άμεσα σχετιζόμενη με το ζ-δυναμικό μέσω του τύπου:

$$\mu_e = \epsilon_r \epsilon_0 \zeta / \eta$$

όπου,  $\epsilon_r$  η διηλεκτρική σταθερά του μέσου διασποράς,  $\epsilon_0$  η διαπερατότητα του κενού και  $\eta$  το ιξώδες του μέσου διασποράς [59].

#### 4.1.6 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM)

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) είναι μία ακόμα τεχνική, με την οποία μπορούμε να πάρουμε πληροφορίες για τη μορφολογία της επιφάνειας των νανοσωματιδίων. Η αρχή λειτουργίας βασίζεται στην εξέταση μίας επιφάνειας, με παλινδρομική σάρωση με μία εξαιρετικά εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων ή με ένα κατάλληλο δειγματολήπτη-ανιχνευτή και λειτουργεί με τον εξής τρόπο. Μια δέσμη ηλεκτρονίων του ανιχνευτή σαρώνει μια επιφάνεια σε ευθεία γραμμή και στη συνέχεια επιστρέφει στην αρχική του θέση και μετατοπίζεται προς τα κάτω, κατά ένα σταθερό διάστημα.

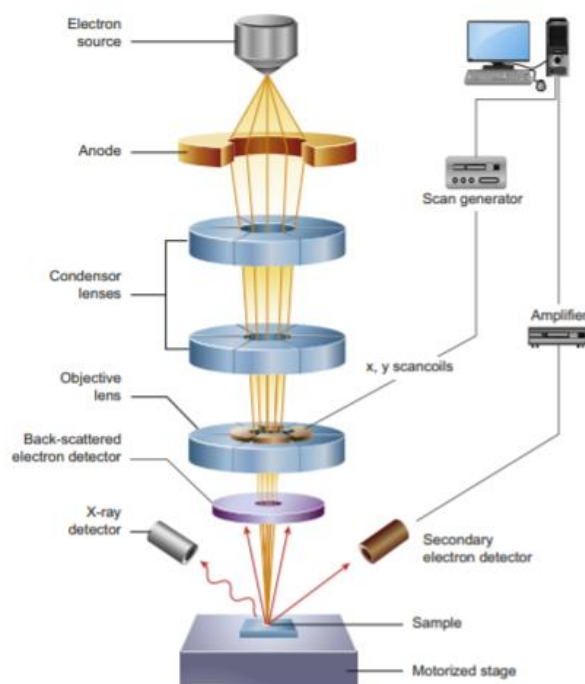
Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται έως ότου σαρωθεί η επιθυμητή περιοχή της επιφάνειας. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της σάρωσης, λαμβάνεται σήμα που αντιστοιχεί στο δεδομένο σημείο της επιφάνειας (διεύθυνση z).

Η λειτουργία του SEM στηρίζεται στις αλληλεπιδράσεις του δείγματος και της προσπίπτουσας δέσμης ηλεκτρονίων. Οι βασικές διατάξεις που υπάρχουν στο μικροσκόπιο είναι:

- το σύστημα παραγωγής δέσμης ηλεκτρονίων
- το σύστημα κατεύθυνσης της δέσμης
- το σύστημα πληροφοριών
- το σύστημα κενού.

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης χρησιμοποιείται σε όλα τα πεδία που μας ενδιαφέρει η γεωμετρία και η σύσταση της μικροδομής. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μια μεγάλη ποικιλία δειγμάτων όπως, βιολογικά υλικά, φιλμ, μεμβράνες, φίλτρα, ίνες, ρητίνες, τέφρες, τσιμέντα, χρώματα, μεταλλικές επιφάνειες, κλπ.

Η μεγάλη δυνατότητα εστίασης και αλλαγής μεγέθυνσης σε ένα ευρύ πεδίο, η ελάχιστη προετοιμασία του δείγματος, τα τρισδιάστατα διαγράμματα που προσφέρει το SEM και γενικότερα οι χρήσιμες πληροφορίες που προσφέρει το έχουν κάνει ένα απαραίτητο εργαλείο έρευνας. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης παίρνουμε ποσοτικές αναλύσεις με λεπτομερείς γεωμετρικές πληροφορίες, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα στον ερευνητή να διακρίνει τις φάσεις. Η διάβρωση και επικάλυψη επιφανειών μελετώνται επίσης, με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, χρησιμοποιώντας όλα τα πλεονεκτήματα του.



**Εικόνα 4.1.4:** Σχηματική αναπαράσταση SEM [60]

#### 4.1.7 Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM)

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία βασίζεται γενικά στην αλληλεπίδραση της ύλης με δέσμη ηλεκτρονίων επιτρέποντας τη λήψη εικόνων μεγαλύτερης ευκρίνειας από ένα οπτικό μικροσκόπιο. Η κβαντική θεωρία του Max Planck και η θεωρία της σχετικότητας του Albert Einstein μετά από επεξεργασία τους από τον de Broglie οδήγησαν στην απόδειξη ότι κάθε σωματίδιο κινούμενο πλησίον της ταχύτητας του φωτός (300.000 km/sec), συνδέεται υπό μορφή ακτινοβολίας με τη σχέση:

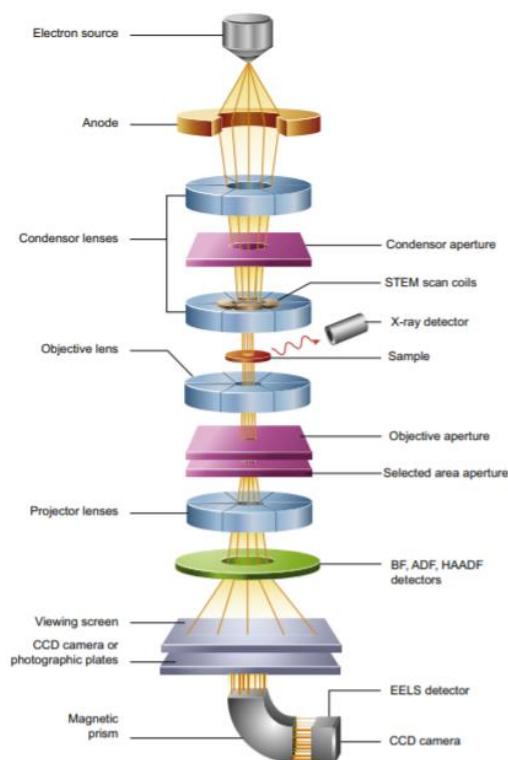
$$\lambda = h/mv$$

όπου,  $m$  η μάζα και  $v$  η ταχύτητα του σωματιδίου και  $h$  η σταθερά του Planck. Εάν αυτό το σωματίδιο είναι το ηλεκτρόνιο το μήκος κύματος  $\lambda$  είναι περίπου 0,005 Å, περίπου 100.000 φορές μικρότερο από την αντίστοιχη ορατή ακτινοβολία.

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης λοιπόν, είναι μια τεχνική μικροσκοπίας στην οποία χρησιμοποιείται δέσμη ηλεκτρονίων προκειμένου να δημιουργήσει μεγεθυμένα είδωλα των αντικειμένων που εξετάζονται. Είναι μια από τις

σημαντικότερες τεχνικές, η οποία δίνει πληροφορίες για την εξωτερική επιφάνεια και τη μορφολογία των σωματιδίων παρά το μικρό τους μέγεθος. Χρησιμοποιεί τις ιδιότητες των ηλεκτρονίων για την απεικόνιση του αντικειμένου, τα οποία διέρχονται μέσα από το δείγμα, επιτυγχάνοντας μεγάλη μεγέθυνση και καλή διακριτική ικανότητα.

Όπως και στην τεχνική περίθλασης ακτινών Χ, έτσι και στην ηλεκτρονική μικροσκοπία θεωρείται ότι τα ηλεκτρόνια περιθλώνται, από τα κρυσταλλικά επίπεδα του υπό εξέταση δείγματος έτσι, ώστε να ισχύει και ο νόμος Bragg, με τη διαφορά ότι το μήκος κύματος είναι πολύ μικρότερο. Τα προς μελέτη υλικά εναποτίθενται πάνω σε κατάλληλες επιφάνειες, οι οποίες σκεδάζουν ελάχιστα τη δέσμη ηλεκτρονίων. Η εναπόθεση γίνεται χρησιμοποιώντας αραιά διαλύματα των υλικών ώστε να είναι ομογενείς η διασπορά των νανοσωματιδίων. Όπως αναφέραμε λοιπόν, οι πληροφορίες που λαμβάνονται από το TEM, αφορούν στη μορφολογία του δείγματος (μέγεθος, σχήμα, διάταξη σωματιδίων), στην κρυσταλλογραφική κατάσταση αυτού, στο βαθμό της δομικής τους τάξης καθώς και στη σύστασή του.



Εικόνα 4.1.5: Σχηματική απεικόνιση TEM [60]

## 4.2 Μέθοδοι Βιολογικής αξιολόγησης

Η αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων με βιολογικά συστήματα είναι από τις πιο σημαντικές εφαρμογές καθώς και η βιολογική τους αξιολόγηση, αφού απευθύνονται σε πολλές βιολογικές και θεραπευτικές εφαρμογές.

### 4.2.1 Κυτταρικές καλλιέργειες

Οι κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν για τη βιολογική αξιολόγηση των νανοσωματιδίων στην παρούσα διπλωματική εργασία ήταν οι παρακάτω:

- NCTC είναι μια υγιή κυτταρική σειρά, προερχόμενη από ανθρώπινα κερατινοειδή κύτταρα δέρματος.
- MCF-7 είναι μια καρκινική κυτταρική σειρά, προερχόμενη από ανθρώπινα κύτταρα μαστού.



#### 4.2.2 Μελέτη αιμοσυμβατότητας των νανοσωματιδίων

Η συμβατότητα των νανοσωματιδίων με το αίμα, θα πρέπει να είναι μια από τις κύριες ανησυχίες, όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για θεραπευτικές εφαρμογές. Κατά την είσοδο των νανοσωματιδίων στο αίμα, υπάρχει άμεση αλληλεπίδραση με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τις πρωτεΐνες του πλάσματος, επηρεάζοντας έτσι, τις βασικές λειτουργίες τους. Η αιμοσυμβατότητα των νανοσωματιδίων στηρίζεται στην αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης τους, με τα διάφορα συστατικά του αίματος, ώστε να προσδιοριστεί η πιθανή βλάβη που θα προκληθεί, κατά την έκθεση τους στο αίμα.

Το αίμα αποτελείται από τρεις κύριους τύπους κυττάρων:

- Ερυθρά αιμοσφαίρια
- Λευκά αιμοσφαίρια
- Αιμοπετάλια

Καθένα από τα οποία με τη δική τους μοναδική φυσική δομή, συμβάλλουν στη φυσιολογική αιμόσταση.

Η μελέτη της αιμόλυσης που προκαλούν τα νανοσωματίδια, πραγματοποιείται *in vitro*. Σύμφωνα με αυτή, αξιολογείται το ποσοστό της αιμόλυσης με φασματοφωτομετρική ανίχνευση αιμογλοβίνης, απουσία του πλάσματος. Τα σωματίδια επωάζονται μαζί με το αίμα, ενώ τα μη κατεστραμένα κύτταρα διαχωρίζονται από τα κατεστραμένα, με φυγοκέντρηση.

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων αιμόλυσης χρησιμοποιήθηκε φρέσκο ανθρώπινο αίμα, το οποίο ελήφθη από ένα υγιές δότη και διατηρήθηκε σε ένα σωλήνα φυγοκέντρησης που περιείχε αντιθρομβωτικό. Αρχικά, σε 10 ml ρυθμιστικού φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (PBS), προστέθηκαν 5 ml αίματος και έπειτα τα ερυθροκύτταρα απομονώθηκαν από το πλάσμα με φυγοκέντρηση (6.000 στροφές ×10 λεπτά ×3 φορές).

Μια ερεθιστική ουσία μπορεί να προκαλέσει λύση του αίματος και να απελευθερώσει την αιμοσφαιρίνη. Στην αρχή, σε 285 μl του δείγματος τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων, 10 μg/ml, 50 μg/ml και 100 μg/ml προστέθηκαν 15 μl αίματος. Το διάλυμα PBS που διατηρήθηκε σε pH 7,4, λήφθηκε ως

αρνητικό δείγμα ελέγχου (negative control). Το απεσταγμένο νερό, καθώς και το Triton X θεωρήθηκαν ως θετικό δείγμα ελέγχου (positive control). Έπειτα, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν (6.000 στροφές ×10 λεπτά) και στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε φούρνο, ώστε να επωαστούν στους 37 °C, για 2 και για 24 ώρες. Στη συνέχεια, μετρήθηκε η απορρόφηση της απελευθερούμενης αιμοσφαιρίνης χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 35, φασματοφωτόμετρο UV / VIS) σε μέγιστο μήκος κύματος ( $\lambda_{max}$ ) 540 nm και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο λόγος αιμόλυσης χρησιμοποιώντας την παρακάτω εξίσωση:

$$\text{Αιμόλυση}\% = \frac{\text{OD δείγματος} - \text{OD αρνητικού ελέγχου}}{\text{OD θετικού ελέγχου} - \text{OD αρνητικού ελέγχου}} 100\%$$

Όπου με OD εκφράζεται η απορρόφηση του διαλύματος με τα νανοσωματίδια, του διαλύματος θετικού ελέγχου (H<sub>2</sub>O, Triton X) και του διαλύματος αρνητικού ελέγχου (PBS) [61-64].

#### 4.2.3 Μελέτη της βιωσιμότητας των κυττάρων με τη μέθοδο MTT

Η διερεύνηση της βιωσιμότητας των κυττάρων αποτελεί σημαντική προϋπόθεση σε περιπτώσεις μελέτης της κυτταροτοξικής δράσης των νανοσωματιδίων. Η διερεύνηση πραγματοποιείται, προσδιορίζοντας ζωτικής σημασίας λειτουργίες των κυττάρων, όπως είναι η ικανότητα ανάπτυξης τους και η ζωτικότητα τους.

- Ικανότητα ανάπτυξης κυττάρων.

Ο προσδιορισμός της διαίρεση των κυττάρων σε μια καλλιέργεια, αφορά τη διερεύνηση της πολλαπλασιαστικής ικανότητας τους. Επομένως, εμφυτεύονται κύτταρα σε συγκέντρωση  $4 \times 10^5$  κύτταρα/ml και μετά από 48 ώρες επώασης στους 37 °C προστίθενται τα νανοσωματίδια και μετά από κάποια χρονικά διαστήματα έκθεσης σε αυτό, μετράται ο αριθμός των κυττάρων σε αιματοκυτόμετρο. Από τις παραπάνω μετρήσεις προκύπτουν καμπύλες

ανάπτυξης του κυτταρικού πληθυσμού παρουσία/απουσία νανοσωματιδίων, που εκφράζουν την πολλαπλασιαστική ικανότητα του συγκεκριμένου κυτταρικού τύπου και την αντιπολλαπλασιαστική δράση του αντίστοιχου φαρμάκου.

➤ Βιωσιμότητα των κυττάρων

Η βιωσιμότητα κυττάρων αναφέρεται στο ποσοστό των υγιών κυττάρων σε μία καλλιέργεια. Ο δείκτης αυτός, προσδιορίζεται ελέγχοντας ζωτικές λειτουργίες όπως, τη μεταβολική δραστηριότητα των κυττάρων (MTT)

Η χρωματομετρική μέθοδος MTT μετράει τη μεταβολική δραστηριότητα των μιτοχονδρίων, βασισμένη στη μετατροπή του MTT (3-(4,5-διμέθυλο-θειαζόλ-2-ύλ)2,5-διφαινύλο-τετραζόλιο) σε φορμαζάνη, από το ένζυμο ηλεκτρική αφυδρογονάση. Η φορμαζάνη απορροφά σε μήκος κύματος (550-570 nm, χρώση ιώδες), ενώ το MTT σε μήκος κύματος (400 nm, χρώση κίτρινο). Οι διαφορές στα επίπεδα φορμαζάνης που προσδιορίζονται, δείχνουν τη μεταβολική δραστηριότητα των μιτοχονδρίων παρουσία/απουσία νανοσωματιδίων και επιτρέπουν να εκτιμήσουμε με ακρίβεια, ευαισθησία και επαναληπτικότητα το ποσοστό (%) ζωτικών κυττάρων στην καλλιέργεια, σε σχέση με το μάρτυρα.

Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν:

- Διάλυμα MTT (1 mg/ml σε PBS, pH 7,4), το οποίο διατηρείται στους 4 °C, για σύντομη χρήση, σε σκουρόχρωμη φιάλη, ενώ στην κατάψυξη διατηρείται σε μικρές ποσότητες για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.
- Διάλυμα λύσης κυττάρων Διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO).

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε περιγράφεται στα παρακάτω βήματα:

- Υπάρχουν 1.000-100.000 κύτταρα ανά τρυβλίο σε ένα πλακίδιο 96 πηγαδιών (96-well plate) όπου επωάζονται με την ουσία που θα μελετηθούν στον επιθυμητό χρόνο (6-48 ώρες).
- Στη συνέχεια αφαιρείται το μέσο που μελετάται και γίνεται πλήση των κυττάρων με PBS.

- Προστίθεται το MTT στα κύτταρα σε συγκέντρωση 1 mg/ml.
- Αφήνεται να επωαστεί από 30 λεπτά έως 4 ώρες στους 37 °C μέχρι οι μωβ κρύσταλλοι που σχηματίζονται να είναι ορατοί με μικροσκόπιο.
- Αφαιρείται το MTT και προστίθεται η ουσία που διαλύει τους κρυστάλλους και γίνεται ήπια ανακίνηση.
- Αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου ή στους 37 °C, από 30 λεπτά έως 2 ώρες, μέχρι να γίνει λύση των κυττάρων και να διαλυθούν οι μωβ κρύσταλλοι.
- Φυγοκέντρηση και φωτομέτρηση σε ELIZA reader πλακιδίων (540/620 nm).

Στη συνέχεια, το ποσοστό (%) της βιωσιμότητας των κυττάρων στην καλλιέργεια σε σχέση με το μάρτυρα υπολογίζεται σύμφωνα με το παρακάτω κλάσμα:

$$\text{Βιωσιμότητα κυττάρων \%} = \frac{\text{OD δείγματος} - \text{OD control}}{\text{OD control}} 100\%$$

Τιμές απορρόφησης μεγαλύτερες από τις τιμές του control υποδεικνύουν κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ μικρότερες υποδεικνύουν θάνατο ή τερματισμό του πολλαπλασιασμού των κυττάρων [63, 65].

### 4.3 Αντιδραστήρια πειραμάτων

Τα αντιδραστήρια N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο (NIPAAm) και αζωδιίσοβουτυλονιτρίλιο (AIBN), N,N'-μεθυλενοδισακρυλαμίδιο (MBA) και θειϊκό μαγγάνιο ( $\text{MnSO}_4$ ) αγοράστηκαν από την Acros Organics και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.

Το μεθακρυλικό οξύ και ο μεθακρυλικός μεθυλεστέρας αγοράστηκαν από την Aldrich και καθαρίστηκαν με απόσταξη πριν χρησιμοποιηθούν. Επιπλέον, το συμπολυμερές αιθυλενογλυκόλη-μεθυλεστέρας (EGMA), το ολεϊκό οξύ, η υδραζίνη και το (3-μερκαπτο-προπυλ)τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS) αγοράστηκαν από την Aldrich.

Το θειούχο νάτριο ( $\text{Na}_2\text{S}$ ), το διχλωριούχο ( $\text{MnCl}_2$ ), η διαιθανολαμίνη (DEA) και το οξικό κάδμιο ( $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO}^-)_2$ ) αγοράστηκε από την Riedel-de Haën.

Ο νιτρικός ψευδάργυρος ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ), καθώς και το υδροξείδιο του καλίου (KOH) αγοράστηκαν από την PanReac.

**Διαλύτες:** οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές πορείες ήταν απεσταγμένο νερό, αιθανόλη, διχλωρομεθάνιο και ακετονιτρίλιο.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

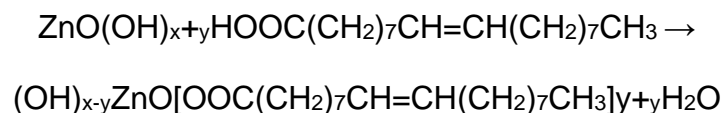
### Σύνθεση πολυμερικών νανοδοχείων εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες

#### 5.1 Σύνθεση και χαρακτηρισμός κβαντικών τελειών

Παρακάτω περιγράφεται η σύνθεση διάφορων κβαντικών τελειών όπως είναι: ZnO, ZnS, ZnS:Mn, ZnS:Cd και ZnSe. Στη συνέχεια, περιγράφεται η σύνθεση των πολυμερικών νανοδοχείων και τέλος, η τροποποίηση αυτών με τις κβαντικές τελείες.

##### 5.1.1 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO@Ολεϊκού οξέος (AP\_09)

Για τη σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO προστέθηκαν 37 mg νιτρικού ψευδαργύρου ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ , 0,124 mmol), 12,5 ml διαιθανολαμίνης (5 mM, 0,125 mmol), σε 25  $\text{H}_2\text{O}$  ml. Το διάλυμα τοποθετήθηκε στο λουτρό υπερήχων ώστε να βελτιωθεί η διασπορά. Στη συνέχεια, το μίγμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 80 °C μέχρι πλήρους σταθεροποίησης αυτής και έγινε προσθήκη 30 ml ολεϊκού οξέος. Αρχικά, το διάλυμα παρουσίασε μια ελαφριά ροζ απόχρωση και μετά την προσθήκη ολεϊκού οξέος χρωματίστηκε κίτρινο. Μετά το πέρας 2 ωρών, ακολούθησε η παρατήρηση του διαλύματος κάτω από λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας, καθώς και ο χαρακτηρισμός του. Η αντίδραση που πραγματοποιείται μεταξύ ZnO και ολεϊκού οξέος φαίνεται παρακάτω:



### 5.1.2 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO (AP\_10)

Για τη σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO προστέθηκαν 37 mg νιτρικού ψευδαργύρου ( $(\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ , 0,124 mmol), 12,5 ml διαιθανολαμίνης (5mM, 0,125 mmol), σε 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλυμα τοποθετήθηκε στο λουτρό υπερήχων ώστε να επιτευχθεί καλή διασπορά. Στη συνέχεια, τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 80 °C. Το διάλυμα παρέμεινε διαυγές καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης. Μετά το πέρας 2 ωρών, ακολούθησε η παρατήρηση του διαλύματος κάτω από λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας, καθώς και ο χαρακτηρισμός του [66].

### 5.1.3 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnO (AP\_13)

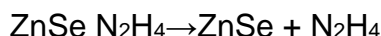
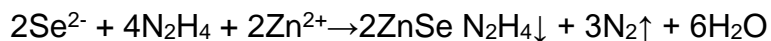
Σε 10 ml απεσταγμένου  $\text{H}_2\text{O}$  προστέθηκαν 0,595 g νιτρικού ψευδαργύρου ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ , 0,2 M, 2 mmol) και ακολούθησε ανάδευση του διαλύματος μέχρι τη διαλυτοποίηση του στερεού. Έπειτα, έγινε προσθήκη 0,224 g υδροξειδίου του καλίου (KOH, 0,4 M, 3,9 mmol). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου, υπό ανάδευση, μέχρι παρατήρησης γαλακτώδους εναιωρήματος. Για τη συλλογή του ίζηματος ακολούθησε φυγοκέντρηση (5.000 στροφές  $\times$  20 min). Εν συνεχεία, το ίζημα εκπλύθηκε δύο φορές με απεσταγμένο νερό και μια φορά με αιθανόλη (EtOH). Έπειτα, το ίζημα σε μορφή γέλης που προέκυψε από τις εκπλύσεις, τοποθετήθηκε σε φούρνο στους 500 °C για 5 ώρες. Το τελικό προϊόν ήταν σε μορφή λευκής σκόνης [67].

### 5.1.4 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnSe (AP\_24)

Σε σφαιρική φιάλη των 250 ml προστέθηκαν 100 ml απεσταγμένο  $\text{H}_2\text{O}$  και ακολούθησε η διαδοχική προσθήκη 60 ml αιθυλενογλυκόλης, 40 ml υδραζίνης που χρησιμοποιήθηκε ως αναγωγικό μέσο, 1,2 g οξικού ψευδαργύρου ( $(\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 5,4 mmol) και 0,818 g στοιχειακού σεληνίου (Se). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία 90 °C, ώστε να γίνεται βρασμός με αναρροή (reflux) μέσω του ψυκτήρα, για 24 ώρες. Το διάλυμα στην αρχή είχε μια απόχρωση του γκρι, ενώ την επόμενη μέρα χρωματίστηκε σκούρο



καφέ-κόκκινο. Ακολούθησε φυγοκέντρηση (5.000×στροφές ×5 min). Το υπερκείμενο διάλυμα παρατηρήθηκε κάτω από λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) και χαρακτηρίστηκε ως προς το φθορισμό του. Έπειτα, το ίζημα που συλλέχτηκε, εκπλύθηκε με αιθανόλη 3 φορές και ξηράνθηκε στο φούρνο στους 50°C για 6 ώρες. Η αντίδραση που πραγματοποιείται φαίνεται παρακάτω [68].



### 5.1.5 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS (AP\_36)

Σε 50 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν 120 μl (3-μερκαπτο-προπυλ)τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,64 mmol) και 0,0605 g νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,32 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Στη συνέχεια προστέθηκαν 3,3 μl θειούχο νάτριο (Na<sub>2</sub>S, 16 mM, 0,08 mmol). Η αναλογία των MPTMS:Zn:S ήταν 8:4:1. Η αντίδραση παρέμεινε υπό ανάδευση για 10 λεπτά και το τελικό διάλυμα φυλάχθηκε στους 4 °C.

### 5.1.6 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS (AP\_39)

Σε 50 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν 120 μl (3-μερκαπτο-προπυλ)τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,64 mmol) και 0,0605 g νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,32 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 209 μl θειούχο νάτριο (Na<sub>2</sub>S, 5 mmol, συγκέντρωσης 0,1 M). Στη συνέχεια το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 90 °C για 24 ώρες. Το τελικό διάλυμα ήταν γαλακτώδες και ημιδιαυγές και

παρατηρήθηκε κάτω από τη λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) τόσο πριν όσο και μετά τη θέρμανση [69].

#### **5.1.7 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS (AP\_40)**

Σε 50 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν 120 μl (3-μερκαπτο-προπυλ)τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,64 mmol) και 0,0605 g νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,32 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1ml). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 0,2458 g γλουταθειόνης (GSH, 16 mM, 0,8 mmol). Στη συνέχεια, το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 90 °C για 24 ώρες. Το τελικό διάλυμα ήταν γαλακτώδες και ημιδιαυγές και παρατηρήθηκε κάτω από τη λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) τόσο πριν όσο και μετά τη θέρμανση. Επιπλέον, ο χαρακτηρισμός του ως προς το φθορισμό του έγινε πριν και μετά τη θέρμανση.

#### **5.1.8 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Mn (AP\_41)**

Σε σφαιρική φιάλη των 10 ml προστέθηκε 2 ml διαλύματος ZnS κβαντικών τελειών που συντέθηκαν προηγουμένως (AP\_39) και 60 μl (3-μερκαπτο-προπυλ) τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,32 mmol). Ακολούθησε η προσθήκη 0,03 g χλωριούχου μαγγανίου (MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0,15 mmol) και 105 μl θειούχου νατρίου (Na<sub>2</sub>S, 2,5 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία 70 °C για 24 ώρες. Την επόμενη μέρα παρατηρήθηκε κάτω από τη λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) και χαρακτηρίστηκε ως προς τον φθορισμό του.

### 5.1.9 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Mn (AP\_42)

Σε 50 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν 120 μl (3-μερκαπτο-προπυλ) τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,64 mmol) και 0,0605 g νιτρικού ψευδαργύρου (Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,32 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Ακολούθησε η προσθήκη 0,03 g χλωριούχου μαγγανίου (MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0,15 mmol). Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Κατά την αύξηση του pH παρατηρήθηκε χρωματική αλλαγή του διαλύματος από άχρωμο διαυγές σε κίτρινο διαυγές. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 209 μl θειούχο νάτριο (Na<sub>2</sub>S, 5 mmol, 0,1 M). Στη συνέχεια το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση και υπό ροή αζώτου (N<sub>2</sub>), σε θερμοκρασία 70 °C για 24 ώρες. Το τελικό διάλυμα παρατηρήθηκε κάτω από τη λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV).

### 5.1.10 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Mn (AP\_47)

Σε σφαιρική φιάλη των 100 ml προστέθηκαν 50 ml H<sub>2</sub>O, 120 μl (3-μερκαπτο-προπυλ) τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,64 mmol) και 0,0605 g νιτρικού ψευδαργύρου (Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,32 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Ακολούθησε η προσθήκη 0,033 g θειούχου μαγγανίου (MnSO<sub>4</sub>, 4 mM, 0,2 mmol). Η τιμή pH του διαλύματος ήταν 8 μετά την προσθήκη 209 μl θειούχο νάτριο (Na<sub>2</sub>S, 0,1 M, 5 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση και υπό ροή αζώτου (N<sub>2</sub>), σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες και έπειτα ακολούθησε η παρατήρηση του διαλύματος κάτω από τη λάμπα UV, καθώς και ο χαρακτηρισμός του με PL και UV-Vis [70].

### 5.1.11 Σύνθεση κβαντικών τελειών ZnS:Cd (AP\_48)

Σε 50 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν διαδοχικά, 120 μl (3-μερκαπτο-προπυλ) τριμεθοξυσιλάνιο (MPTMS, 0,64 mmol) και 0,0605 g νιτρικού ψευδαργύρου (Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,32 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Ακολούθησε η προσθήκη 0,053 g οξικού καδμίου (Cd(COO<sup>-</sup>)<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O, 0,17 mmol). Για την επίτευξη του pH στο 12, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Τέλος, προστέθηκαν στο διάλυμα 209 μl θειούχου νατρίου (Na<sub>2</sub>S, 5 mmol, 0,1 M). Το διάλυμα τέθηκε σε μαγνητική ανάδευση υπό ροή αζώτου (N<sub>2</sub>), σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες και έπειτα ακολούθησε θέρμανση στους 70 °C για 24 ώρες. Η παρατήρηση του διαλύματος κάτω από τη λάμπα UV, έγινε και πριν και μετά τη θέρμανση.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα διαφορετικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τις συνθέσεις των κβαντικών τελειών. Έπειτα από πολλές δοκιμές, χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια που είχαν καλύτερα αποτελέσματα μετά τον χαρακτηρισμό των τελειών.

**Πίνακας 5.1.1:** Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στις συνθέσεις των κβαντικών τελειών.

ZnS	ZnO	ZnS:Mn	ZnS:Cd	ZnSe
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ <math>Na_2S</math></li> </ul> <p>PH 12</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ OA (ολεϊκό οξύ)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ <math>MnCl_2 \cdot 4H_2O</math></li> </ul> <p>PH 12</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ <math>Cd(CH_3COO^-)_2</math></li> </ul> <p>PH 12</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(CH_3COO^-)_2</math></li> <li>✓ Se</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ GSH (γλουταθει όνη)</li> </ul> <p>PH 12</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ Χωρίς OA (ολεϊκό οξύ)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ <math>Mn(CH_3COO^-)_2</math></li> </ul> <p>PH 12</p>		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ KOH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(CH_3COO^-)_2</math></li> <li>✓ <math>MnCl_2 \cdot 4H_2O</math></li> </ul> <p>PH 8</p>		
		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <math>Zn(NO_3)_2</math></li> <li>✓ <math>MnSO_4</math></li> </ul> <p>PH 12</p>		

## 5.2 Σύνθεση πολυμερικών νανοσφαιρών

Η σύνθεση των πολυμερικών νανοσφαιρών PMMA και PMAA πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο πολυμερισμού γαλακτώματος. Πιο συγκεκριμένα, οι νανοσφαίρες πολύ-μεθυλ-μεθακρυλικού εστέρα συντέθηκαν με τη διαδικασία του πολυμερισμού του μονομερούς μεθακρυλικού μεθυλίου, ενώ οι νανοσφαίρες πολύ-μεθακρυλικού οξέος συντέθηκαν με τη διαδικασία του ριζικού πολυμερισμού γαλακτώματος με απόσταξη.

### 5.2.1 Σύνθεση νανοσφαιρών πολύ-μεθακρυλικού μεθυλεστέρα P(MMA) (AP\_04)

Σε δίλιμη σφαιρική φιάλη των 50 ml προστέθηκαν 30 ml  $H_2O$  και 3 ml μεθακρυλικού μεθυλεστέρα (MMA, 28 mol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση και κάτω από ροή  $N_2$ , σε θερμοκρασία 70 °C. Έπειτα, ακολούθησε η προσθήκη

60 mg υπεροξειδιθειϊκό δικάλιο (KPS, 0,22 mmol) ως εκκινητής του πολυμερισμού. Μετά το πέρας 20 λεπτών παρατηρήθηκε ο σχηματισμός γαλακτώματος. Η αντίδραση αφέθηκε στους 70 °C για 24 ώρες. Το διάλυμα απομονώθηκε και ακολούθησε καθαρισμός μέσω επαναλαμβανόμενων κύκλων φυγοκεντρήσεων και επαναδιασποράς με νερό (5000 στροφές ×10 min ×3 φορές).

### **5.2.2 Σύνθεση του pH ευαίσθητου κελύφους με διασταυρούμενη σύνδεση P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA) (AP\_05)**

Στην επιφάνεια των πολυμερικών σφαιρών δημιουργήθηκε ένα pH ευαίσθητο κέλυφος με διασταυρούμενη σύνδεση με N,N'-μεθυλενοδισακρυλαμίδιου (MBA) ως σταυροδέτη. Η σύνθεση πραγματοποιήθηκε σε δίλαιο σφαιρική φιάλη των 50 ml στην οποία έγινε προσθήκη 150 mg PMMA διεσπαρμένων σε 25 ml H<sub>2</sub>O. Η σύνθεση έλαβε χώρα υπό ανάδευση και παρουσία N<sub>2</sub> στους 70 °C για 40 λεπτά. Ακολούθησε η προσθήκη 320 μl MMA (3 mol), 30 μl MAA ( 0,35 mmol) και 12 mg N,N'-μεθυλενοδισακρυλαμίδιου (MBA, 0,08 mmol). Μετά την πάροδο 20 λεπτών έγινε και η προσθήκη 15 mg υπεροξειδιθειϊκού δικαλίου (KPS, 0,055 mmol). Η αντίδραση αφέθηκε για 24 ώρες. Μετά το πέρας της αντίδρασης το γαλάκτωμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου και πραγματοποιήθηκε όμοια διαδικασία απομόνωσης και καθαρισμού μέσω συνεχόμενων κύκλων φυγοκέντρωσης και επαναδιασποράς σε νερό (5.000 στροφές ×10 min ×3 φορές).

### **5.2.3 Εκδίωξη του πυρήνα από τις σφαίρες P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA) (AP\_12)**

Μετά τη σύνθεση των νανοσφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA), έγινε προσπάθεια εκδίωξης του πυρήνα τους. Αρχικά, σε 5 ml αιθανόλης (EtOH) και σε 5 ml διχλωρομεθανίου (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) έγινε η προσθήκη 10 mg σφαιρών. Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Την

επόμενη μέρα, ακολούθησε απομόνωση και καθαρισμός του προϊόντος με αιθανόλη, μέσω φυγοκεντρήσεων (5.000 στροφές ×10 min ×3 φορές).

#### **5.2.4 Τροποποίηση της επιφάνειας των σφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO (AP\_18)**

Σε 20 ml H<sub>2</sub>O προσθέτω 10 mg σφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA), 1,19 g νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,2 M, 4 mmol) και 0,45 g υδροξειδίου του καλίου (KOH, 0,4 M, 8 mmol). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε υπό συνεχή ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Έπειτα, έλαβαν χώρα η απομόνωση και ο καθαρισμός των νανοδοχείων με αιθανόλη (EtOH), με φυγοκεντρήσεις (5.000 στροφές ×10 min ×3 φορές) [71].

#### **5.2.5 Τροποποίηση της επιφάνειας των σφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO@OA (AP\_19)**

Σε 2 σφαιρικές φιάλες των 100 ml έγινε η προσθήκη 12,5 ml H<sub>2</sub>O στην καθεμία και 20 mg σφαιρών P(MMA-co-MMA-co-MAA-co-MBA). Ακολούθησε η προσθήκη 37 mg νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,12 mmol) καθώς και 12,5 ml διαιθανολαμίνης (DEA, 0,0625 mmol). Τα διαλύματα αφέθηκαν υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα και έπειτα έγινε αύξηση της θερμοκρασίας στους 80 °C. Επιπροσθέτως, σε ένα από τα διαλύματα έγινε προσθήκη 30 ml ολεϊκού οξέος (OA, 0,17 mmol) και το χρώμα του διαλύματος έγινε ελαφρώς κιτρινωπό. Η αντίδραση αφέθηκε για 24 ώρες και έπειτα τα διαλύματα παρατηρήθηκαν κάτω από τη λάμπα UV [66].

#### **5.2.6 Σύνθεση νανοσφαιρών πολύ-μεθακρυλικού οξέος P(MAA) (AP\_31)**

Η σύνθεση των νανοσφαιρών PMAA πραγματοποιήθηκε με τη διαδικασία του ριζικού πολυμερισμού γαλακτώματος με απόσταξη. Σε σφαιρική φιάλη των 100 ml φέρονται 40 ml ακετονιτριλίου, ενός μη πρωτικού πολικού διαλύτη (d=0,786 g/ml), η οποία τοποθετείται σε θερμομαγνητικό αναδευτήρα εντός

ελαιόλουτρου, παρουσία αζώτου για 60 min, ώστε να πραγματοποιηθεί απαέρωση του διαλύματος. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 980 ml μεθακρυλικού οξέος (0,14 mmol), το οποίο είναι υδρόφιλο μονομερές. Μετά το πέρας των 60 min και τη σταθεροποίηση της θερμοκρασίας στους 70 °C, προστίθεται 20 mg του εκκινήτη 2,2'-αζω-διίσοβουτυρονιτρίλιο (AIBN, 0,06 mmol). Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης παρουσιάστηκε θολερότητα και σταδιακά το διάλυμα μετατράπηκε σε γαλακτώδες. Στη συνέχεια, αυξήθηκε η θερμοκρασία στους 90 °C και πραγματοποιήθηκε απόσταξη του διαλύτη (~20 ml). Το διάλυμα απομονώθηκε και ακολούθησε καθαρισμός μέσω επαναλαμβανόμενων κύκλων φυγοκεντρήσεων και επαναδιασποράς με ακετονιτρίλιο (5.000 στροφές ×5 min ×3 φορές).

#### **5.2.7 Σύνθεση του pH/θερμο-ευαίσθητου κελύφους με διασταυρούμενη σύνδεση P(MAA-co-MAA-co-NIPAAm-co-MBA) (AP\_31)**

Η επιφάνεια των πολυμερικών σφαιρών PMAA επικαλύφθηκε με ένα πολύ-ευαίσθητο κέλυφος με τη βοήθεια του σταυροδέτη MBA. Σε σφαιρική φιάλη των 200 ml έγινε προσθήκη 70 ml ακετονιτριλίου και 225 mg σφαιρών PMAA, που συνέτεθησαν στο παραπάνω βήμα και διασπάρθηκαν με τη βοήθεια υπερήχων. Στη συνέχεια, το μίγμα θερμάνθηκε στους 70 °C, υπό ατμόσφαιρα αζώτου και συνεχή ανάδευση. Αφού αφέθηκε προς ανάδευση για μικρό χρονικό διάστημα, προστέθηκε διαδοχικά το N,N'-μεθυλενοδισακρυλαμίδιο (MBA, 140 mg, 0,64 mmol), και το μεθακρυλικό οξύ (MAA, 100 ml, 0,93 mol), καθώς και το N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο (NIPAAm, 225 mg, 1,9 mmol). Τέλος, έγινε η προσθήκη 2,2'-αζω-διίσοβουτυρονιτρίλιο (AIBN, 10 mg, 0,06 mmol). Η θερμοκρασία αυξήθηκε σταδιακά στους 90 °C, ώστε να πραγματοποιηθεί η απόσταξη του διαλύτη (~35 ml). Μετά το πέρας της αντίδρασης το γαλάκτωμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου και πραγματοποιήθηκε όμοια διαδικασία απομόνωσης και καθαρισμού μέσω συνεχόμενων κύκλων φυγοκέντρωσης και επαναδιασποράς σε ακετονιτρίλιο (5.000 στροφές ×5 min ×3 φορές) [72].



### **5.2.8 Σύνθεση τροποποιημένων νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe (AP\_34)**

Κατά την πορεία της σύνθεσης των σφαιρών πολύ-μεθακρυλικού οξέος (PMAA) όπως περιγράφεται στην παράγραφο 5.2.5, έγινε προσθήκη 100 μl κβαντικών τελειών ZnSe (παράγραφος 5.1.4). Στη συνέχεια ακολούθησε η σύνθεση του pH/θερμο-ευαίσθητου κελύφους. Σε σφαιρική φιάλη των 200 ml έγινε προσθήκη 70 ml ακετονιτρίλιου και 225 mg σφαιρών PMAA@ZnSe, που διασπάρθηκαν με τη βοήθεια υπερήχων. Στη συνέχεια, το μίγμα θερμάνθηκε στους 70 °C, υπό ατμόσφαιρα αζώτου και συνεχή ανάδευση. Αφού αφέθηκε προς ανάδευση για μικρό χρονικό διάστημα, προστέθηκε διαδοχικά το N,N'-μεθυλενοδιασακρυλαμίδιο (MBA 67 mg, 0,4 mmol), το μεθακρυλικό οξύ (MAA, 100 μl, 1,2 mmol), καθώς και το N-ισοπροπυλακρυλαμίδιο (NIPAAm 225 mg, 1,9 mmol). Επιπλέον προστέθηκαν 34 mg αιθυλενογλυκόλη-μεθυλεστέρα (EGMA, 0,2 mmol), με σκοπό την αύξηση της βιοσυμβατότητας των τροποποιημένων σφαιρών. Τέλος, έγινε η προσθήκη 2,2'-αζω-διισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN, 10 mg, 0,06 mmol). Η θερμοκρασία αυξήθηκε σταδιακά στους 90 °C, ώστε να πραγματοποιηθεί η απόσταξη του διαλύτη (~35 ml). Μετά το πέρας της αντίδρασης το γαλάκτωμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου και πραγματοποιήθηκε όμοια διαδικασία απομόνωσης και καθαρισμού μέσω συνεχόμενων κύκλων φυγοκέντρωσης και επαναδιασποράς σε ακετονιτρίλιο (5.000 στροφές ×5 min ×3 φορές).

### **5.2.9 Εκδίωξη πυρήνα από τις νανοσφαίρες P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe (AP\_44)**

Η αφαίρεση του πυρήνα από τις σφαίρες πραγματοποιήθηκε σε σφαιρική φιάλη των 25 ml με την προσθήκη 5 mg σφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe σε 2,5 ml αιθανόλης (EtOH) και 2,5 ml απεσταγμένου νερού. Το διάλυμα αφέθηκε υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Έπειτα, ακολούθησε η απομόνωση και ο καθαρισμός των νανοδοχείων με αιθανόλη, μέσω φυγοκεντρήσεων (5.000 στροφές ×10 min ×3 φορές).

### **5.2.10 Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnO (AP\_50)**

Σε 10 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν 0,059 g νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,2 M, 0,2 mmol) και 0,022 g υδροξειδίου του καλίου (KOH, 0,4 mmol). Η αντίδραση τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, από λίγα λεπτά έγινε η προσθήκη 0,025 g σφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe. Το διάλυμα αφέθηκε για 24 ώρες υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου. Την επόμενη μέρα ακολούθησε η διαδικασία της απομόνωσης των νανοδοχείων και οι εκπλύσεις με αιθανόλη (EtOH), μέσω φυγοκεντρήσεων (5.000 στροφές ×10 min ×3 φορές).

### **5.2.11 Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnS (AP\_52)**

Σε 10 ml H<sub>2</sub>O προστέθηκαν 24 μl (3-μερκαπτο-προπυλ)τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,13 mmol) και 0,012 g νιτρικού ψευδαργύρου ((Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,04 mmol) και 0,022 g υδροξειδίου του καλίου (KOH, 0,4 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml H<sub>2</sub>O σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Στη συνέχεια, προστέθηκαν

42 ml θειούχο νάτριο ( $\text{Na}_2\text{S}$ , 0,1 M, 5 mmol). Έπειτα από λίγα λεπτά έγινε η προσθήκη 0,025 g σφαιρών  $\text{P}(\text{MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA})@\text{ZnSe}$ . Το διάλυμα αφέθηκε για 24 ώρες υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία 70 °C. 24 ώρες μετά ακολούθησε η διαδικασία της απομόνωσης των νανοδοχείων και οι εκπλύσεις με αιθανόλη (EtOH), μέσω φυγοκεντρήσεων (5.000 στροφές  $\times 10 \text{ min} \times 3$  φορές).

#### **5.2.12 Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων $\text{P}(\text{MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA})@\text{ZnSe}@\text{ZnS:Mn}$ (AP\_49)**

Σε 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$  προστέθηκαν 24 ml (3-μερκαπτο-προπυλ) τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,13 mmol) και 0,012 g νιτρικού ψευδαργύρου ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ , 0,04 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml  $\text{H}_2\text{O}$  σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Ακολούθησε η προσθήκη 0,007 g θειϊκού μαγγανίου ( $\text{MnSO}_4$ , 0,04 mmol). Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 42 ml θειούχο νάτριο ( $\text{Na}_2\text{S}$ , 0,1 M, 5 mmol). Έπειτα από λίγα λεπτά έγινε η προσθήκη 0,025 g σφαιρών  $\text{P}(\text{MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA})@\text{ZnSe}$ . Το διάλυμα αφέθηκε για 24 ώρες υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία 70 °C. Την επόμενη μέρα ακολούθησε η διαδικασία της απομόνωσης των νανοδοχείων και οι εκπλύσεις με αιθανόλη (EtOH), μέσω φυγοκεντρήσεων (5.000 στροφές  $\times 10 \text{ min} \times 3$  φορές).

#### **5.2.13 Σύνθεση τροποποιημένων νανοδοχείων $\text{P}(\text{MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA})@\text{ZnSe}@\text{ZnS:Cd}$ (AP\_51)**

Σε 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$  προστέθηκαν 24 ml (3-μερκαπτο-προπυλ)τριμεθοξυ σιλάνιο (MPTMS, 0,13 mmol) και 0,012 g νιτρικού ψευδαργύρου ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ , 0,04 mmol). Το διάλυμα τέθηκε υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αντιδρώντα διαλυτοποιήθηκαν ξεχωριστά σε 1 ml  $\text{H}_2\text{O}$  σε λουτρό υπερήχων, πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα. Ακολούθησε η προσθήκη 0,0106 g

οξικού καδμίου ( $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO}^-)_2$ , 0,03 mmol). Η επιθυμητή τιμή pH ήταν 12 και για να επιτευχθεί, προστέθηκε υδροξείδιο του τετραμεθυλαμμωνίου (TMAH, 1 ml). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 42 ml θειούχο νάτριο ( $\text{Na}_2\text{S}$ , 5 mmol, 0,1 M). Έπειτα από λίγα λεπτά έγινε η προσθήκη 0,025 g σφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe. Το διάλυμα αφέθηκε για 24 ώρες υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία 70 °C. Την επόμενη μέρα ακολούθησε η διαδικασία της απομόνωσης των νανοδοχείων και οι εκπλύσεις με αιθανόλη (EtOH), μέσω φυγοκεντρήσεων (5.000 στροφές  $\times$  10 min  $\times$  3 φορές).

### **5.3 Εγκλωβισμός αντιμικροβιακού φαρμάκου (Levofloxacin) στα τροποποιημένα νανοδοχεία**

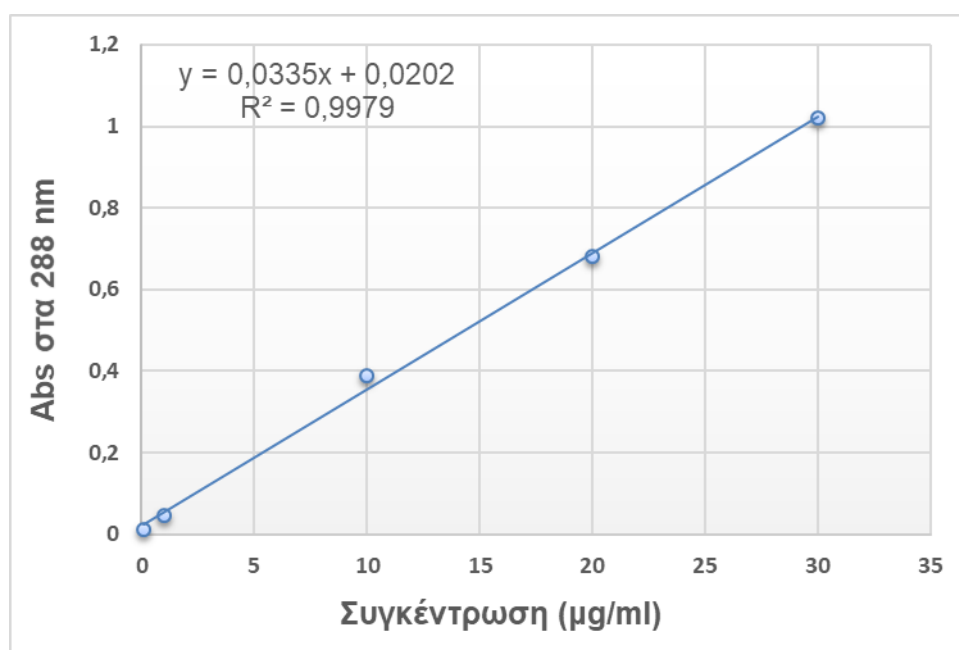
Μετά τις συνθέσεις των τροποποιημένων νανοδοχείων έγινε ο χαρακτηρισμός τους με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM) ώστε να αξιολογηθούν τόσο το μέγεθος όσο και το σχήμα των νανοσφαιρών πριν και μετά την τροποποίηση τους και παράλληλα επιβεβαιώθηκε και η εκδίωξη του πυρήνα. Στα τροποποιημένα νανοδοχεία έγινε ο εγκλωβισμός του αντιμικροβιακού φαρμάκου Levofloxacin και έπειτα υπολογίστηκε το ποσοστό εγκλωβισμού του φαρμάκου. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

Σε 1 ml PBS (ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, pH 7,4) διασπάρθηκε 1 mg τροποποιημένων νανοδοχείων. Το μίγμα αναδεύτηκε ήπια, για 48 ώρες σε θερμοκρασία 37 °C. Το προκύπτον εναιώρημα φυγοκεντρήθηκε (8.000 στροφές  $\times$  5 min) και η φαρμακευτική ένωση που δεν εγκλωβίστηκε, απομακρύνθηκε μέσω του υπερκείμενου, στο οποίο προσδιορίστηκε η μη εγκλωβισμένη φαρμακευτική ουσία. Το ποσοστό εγκλωβισμού του φαρμάκου (Levofloxacin), προσδιορίστηκε με φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) σύμφωνα με μία πρότυπη καμπύλη αναφοράς. Ο υπολογισμός της Levofloxacin που εγκλωβίστηκε υπολογίστηκε από τη διαφορά της συγκέντρωσης της Levofloxacin, μεταξύ του αρχικού ποσού της και της συγκέντρωσης του υπερκείμενου διαλύματος, μετά τον εγκλωβισμό της. Η καμπύλη αναφοράς παρασκευάστηκε με διαφορετικές συγκεντρώσεις του φαρμάκου σε διάλυμα PBS.

Η αποδοτικότητα του εγκλωβισμού του φαρμάκου, καθώς και η ικανότητα των τροποποιημένων νανοδοχείων να εγκλωβίζουν τη φαρμακευτική ένωση, υπολογίστηκαν με βάση τις παρακάτω εξισώσεις:

$$\text{Ικανότητα εγκλωβισμού (LC\%)} = \frac{\text{βάρους του εγκλωβισμένου φαρμάκου}}{\text{συνολικό βάρος των σφαιρών}} 100\%$$

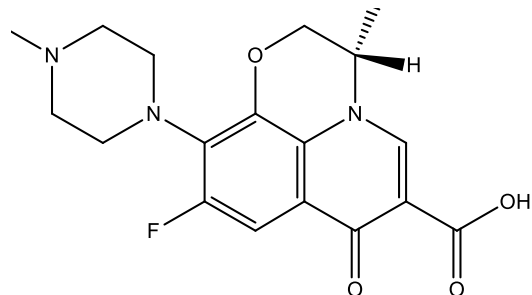
$$\text{Αποδοτικότητα εγκλωβισμού (EE\%)}: \frac{\text{βάρους του εγκλωβισμένου φαρμάκου}}{\text{βάρους του αρχικού φαρμάκου}} 100\%$$



**Εικόνα 5.3.1:** Πρότυπη καμπύλη αναφοράς του Levofloxacin.

- Για τους φορείς P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe η ικανότητα εγκλωβισμού του Levofloxacin μετά από επώαση 48 ωρών σε διάλυμα PBS, υπολογίστηκε σε 98% και η αποτελεσματικότητα του εγκλεισμού ήταν 98%.
- Για τους φορείς P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe@ZnS:Mn η ικανότητα εγκλωβισμού του Levofloxacin

μετά από επώαση 48 ωρών σε διάλυμα PBS, υπολογίστηκε σε 97,5% και η αποτελεσματικότητα του εγκλεισμού ήταν 97,5%.



**Εικόνα 5.3.2:** Χημική δομή του Levofloxacin.

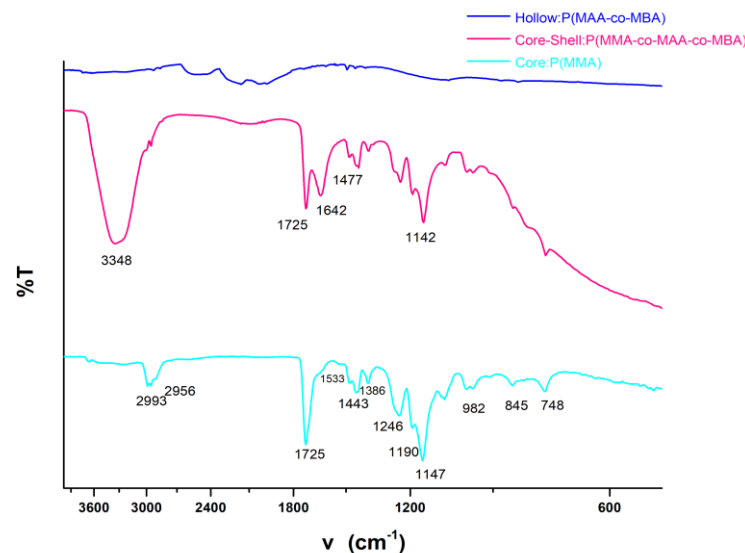
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### Αποτελέσματα- Συζήτηση

#### 6.1 Δομικός χαρακτηρισμός με FT-IR

##### 6.1.1 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)

Ο δομικός χαρακτηρισμός των πολυμερικών νανοσφαιρών πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία FT-IR, με φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer Spectrum 100 και στο παρακάτω γράφημα συγκρίνονται οι χαρακτηριστικές κορυφές:



**Σχήμα 6.1.1:** Διάγραμμα FT-IR των νανοδοχείων P(MAA-co-MBA), των τροποποιημένων νανοσφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA) και των νανοσφαιρών P(MAA).

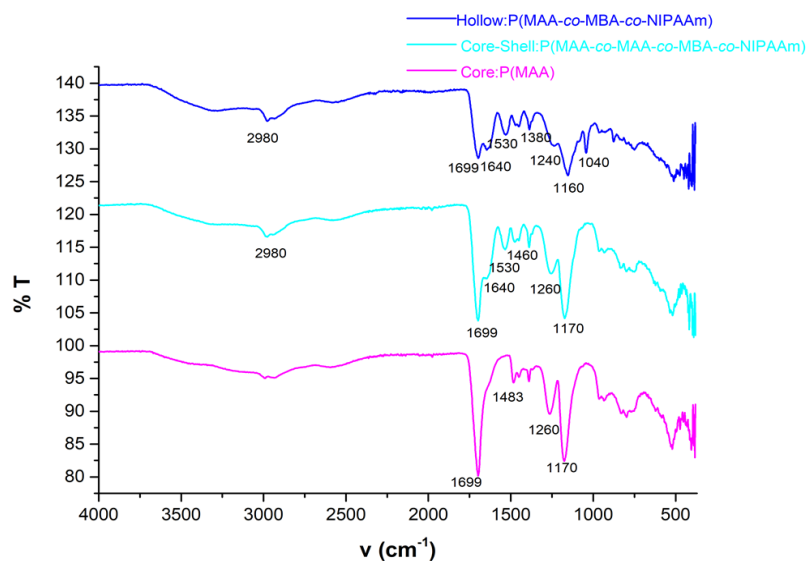
Αρχικά και στα δύο διαγράμματα του Σχήματος 6.1.1, παρατηρείται μια χαρακτηριστική κορυφή στα  $1725 \text{ cm}^{-1}$  ενδεικτική της δόνησης τάσης του δεσμού C=O της εστερικής ομάδας. Στο διάγραμμα των επικαλυμμένων νανοσφαιρών παρατηρείται η δόνηση τάσης της εστερικής ομάδας (C=O), στα  $1642 \text{ cm}^{-1}$ , αλλά και δόνηση τάσης της καρβοξυλικής ομάδας (C=O) του MMA. Η κορυφή στα  $1443 \text{ cm}^{-1}$  αντιστοιχεί στην ασύμμετρη δόνηση κάμψης του δεσμού C-H, ενώ στα  $1386 \text{ cm}^{-1}$  φαίνεται η συμμετρική δόνηση κάμψης του δεσμού C-H. Πιο χαμηλά, στα  $1245 \text{ cm}^{-1}$  εμφανίζεται η δόνηση κάμψης της

υδροξυλομάδας (O-H) του καρβοξυλίου. Έπειτα, φαίνεται η δόνηση κάμψης του δεσμού C-O, στα  $1190\text{ cm}^{-1}$ . Στο δεύτερο διάγραμμα των επικαλυμένων νανοσφαιρών, φαίνεται μια κορυφή στα  $1533\text{ cm}^{-1}$  που αποδεικνύει την ύπαρξη αμιδικού δεσμού του MBA, καθώς εκεί εμφανίζεται η δόνηση κάμψης του δεσμού N-H. Στο διάγραμμα των κενών νανοδοχείων φαίνεται πως δεν υπάρχουν κορυφές χαρακτηριστικές της εστερικής ομάδας του MMA, όπως εμφανίζονται στα άλλα δυο διαγράμματα. Οι κορυφές στα  $2993\text{ cm}^{-1}$  και  $3348\text{ cm}^{-1}$  οφείλονται πιθανά στην ύπαρξη υγρασίας των προϊόντων. Μέσω της αξιολόγησης των φασμάτων FT-IR μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι έγινε η επικάλυψη των νανοσφαιρών με το pH ευαίσθητο κέλυφος και στη συνέχεια αφαιρέθηκε ο πυρήνας από αυτές.

#### **6.1.2 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm), P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA) και P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe**

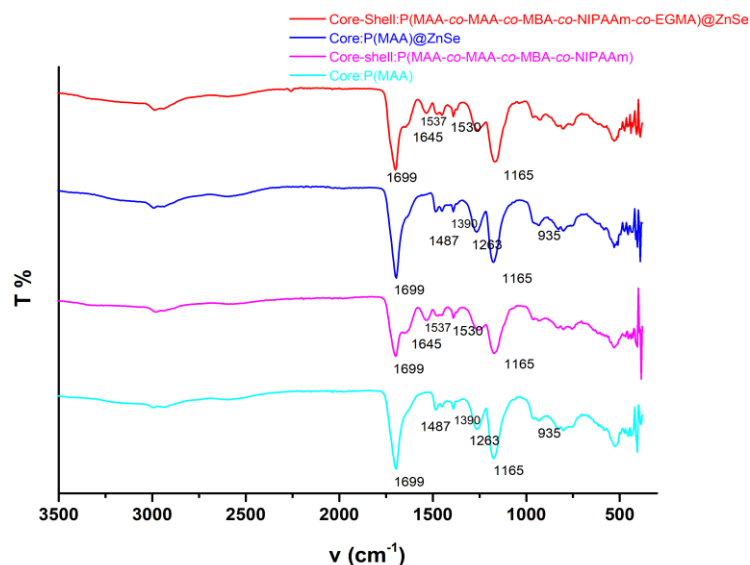
Ο δομικός χαρακτηρισμός των νανοσφαιρών πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία FT-IR. Παρακάτω φαίνονται τα υπέρυθρα φάσματα των σταδίων της σύνθεσης των νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm). Η δόνηση του δεσμού O-H εμφανίζονται στα  $2995\text{ cm}^{-1}$ . Οι απορροφήσεις στα  $1699\text{ cm}^{-1}$  μπορούν να αποδοθούν στη δόνηση τάσης των καρβονυλίων του μεθακρυλικού οξέος (P(MAA)). Πιο χαμηλά, οι απορροφήσεις στα  $1645\text{ cm}^{-1}$  οφείλονται στους αμιδικούς δεσμούς του συμπολυμερικού δικτύου P(MAA-co-MAA-MBA-co-NIPAAm). Επιπλέον, στο διάγραμμα των κενών νανοδοχείων παρατηρούμε πως η οξεία κορυφή που υπήρχε στα  $1699\text{ cm}^{-1}$  μειώθηκε, μετά την αφαίρεση του πυρήνα (MAA), ενώ η κορυφή στα  $1640\text{ cm}^{-1}$  εμφανίζεται πιο έντονη.





**Σχήμα 6.1.2:** Διάγραμμα FT-IR των νανοσφαιρών P(MAA), PMAA@P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) και νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm).

Στο Σχήμα 6.1.3 παρουσιάζεται ένα συγκριτικό διάγραμμα μεταξύ των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) και P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA). Παρατηρείται η εμφάνιση της κορυφής στα 1645  $\text{cm}^{-1}$  στα διαγράμματα των πολυμερικών νανοσφαιρών επικαλυμμένων με κέλυφος, η οποία αποδίδεται στους αμιδικούς δεσμούς του συμπολυμερικού δικτύου P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA).



**Σχήμα 6.1.3:** Διάγραμμα FT-IR των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) και P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA) παρουσία κβαντικών τελειών ZnSe.

## 6.2 Χαρακτηρισμός με Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS)

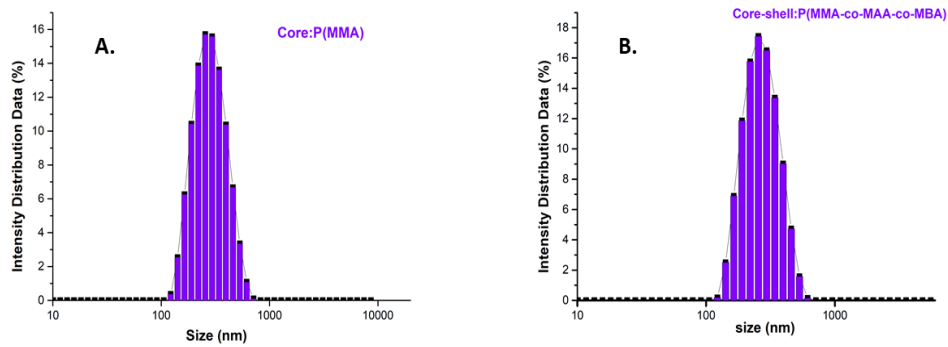
Οι μετρήσεις μέσω της Δυναμικής σκέδασης φωτός (DLS) πραγματοποιήθηκαν με το Malvern Instruments Zetasizer Nano Series.

### 6.2.1 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)

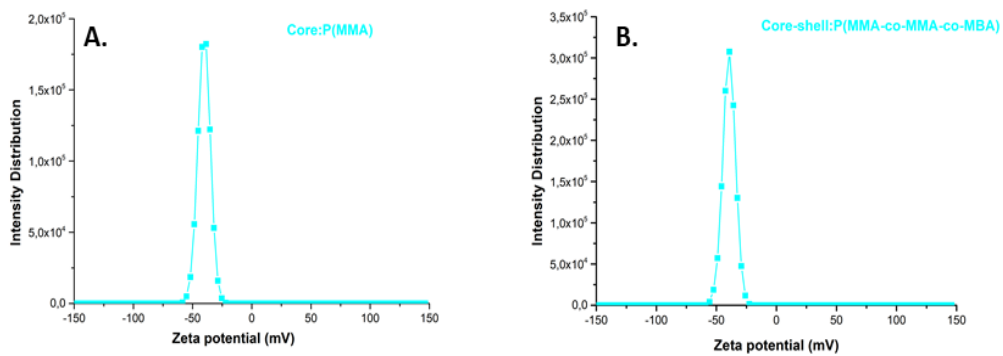
Το μέγεθος των νανοσφαιρών P(MMA), μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου, προσδιορίστηκε στα  $263 \pm 94$  (Pdl: 0,114). Μετά από την επικάλυψη, το μέγεθος των νανοσφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA) προσδιορίστηκε στα  $256 \pm 84$  (pdl: 0,079). Η τιμή του ζ-δυναμικού προσδιορίστηκε στα -40 και -39,9 mV, αντίστοιχα. Η μείωση ή η αύξηση του ζ-δυναμικού σχετίζεται με τη διάμετρο των νανοσωματιδίων. Συγκεκριμένα, οι δύο αυτές παράμετροι σχετίζονται με την pH ευαισθησία του ακρυλικού οξέος των πολυμερικών νανοσφαιρών.

Η αύξηση του μεγέθους οφείλεται σε δύο πιθανούς μηχανισμούς: είτε στη διόγκωση (swelling) της σφαίρας λόγω των πρωτονίων τα οποία τα οποία αλληλεπιδρούν με τα επιφανειακά καρβοξύλια, είτε στη μείωση του ζ-δυναμικού η οποία προκύπτει από τη μείωση του pH με συνέπεια τη μείωση των απωστικών δυνάμεων στο αιώρημα. Αντίστοιχα, η μείωση του μεγέθους οφείλεται στην ύπαρξη περισσότερων επιφανειακών καρβοξυλίων τα οποία

απωθούνται μεταξύ τους. Η μείωση ή η αύξηση των απωστικών δυνάμεων έχει ως αποτέλεσμα τα σωματίδια να πλησιάζουν περισσότερο μεταξύ τους ή να απομακρύνονται, προκαλώντας μεταβολές στη διάμετρο των νανοσωματιδίων [53].



**Εικόνα 6.2.1:** Διαγράμματα μεγέθους (DLS) των σφαιρών P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA).



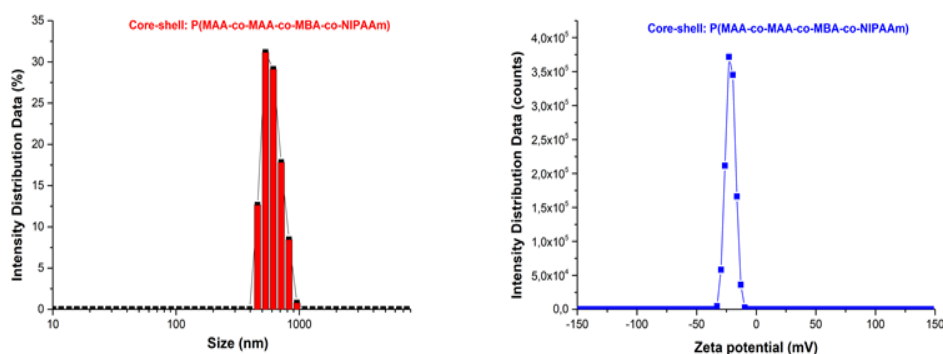
**Εικόνα 6.2.2:** Διαγράμματα ζ-δυναμικού (DLS) των σφαιρών P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA).

Πίνακας 6.2.1: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

Πολυμερικές νανοσφαίρες	Μέγεθος (Size,nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta Potential (mV)
P(MMA)	263 ± 94	0,114	-40
P(MMA-co-MAA-co-MBA)	256 ± 84	0,079	-39,9

### 6.2.2 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) (AP\_31)

Το μέγεθος των πολυμερικών νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm) προσδιορίστηκε, μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου στα  $2439 \pm 107,4$  (PdI:0,949), γεγονός που πιθανά οφείλεται σε συσσωμάτωση. Αυτό επαληθεύεται και από το ζ δυναμικό το οποίο είναι  $-21,6$  mV, το οποίο δηλώνει ένα όχι και τόσο καλό κolloειδές διάλυμα.



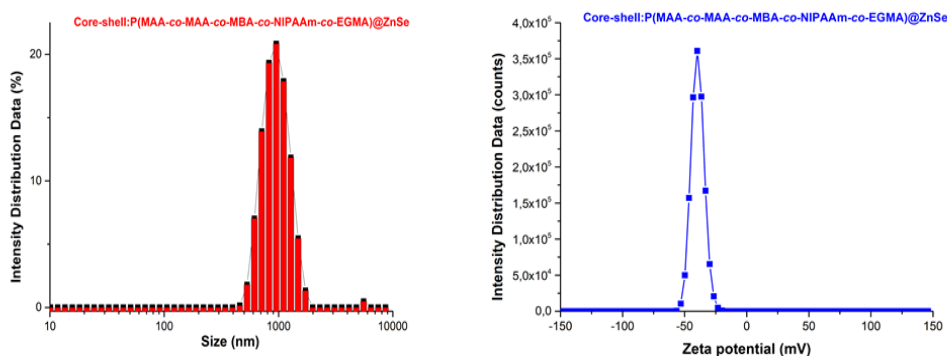
Εικόνα 6.2.3: Διαγράμματα μεγέθους και ζ δυναμικού (DLS) των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm).

Πίνακας 6.2.2: Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

Πολυμερικές νανοσφαίρες	Μέγεθος (Size,nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta Potential (mV)
P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm)	2439 ± 107,4	0,949	-21,6

### 6.2.3 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe

Η υδροδυναμική διάμετρος και το ζ-δυναμικό των πολυμερικών νανοσφαιρών προσδιορίστηκε μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παρακάτω φαίνονται χαρακτηριστικά τα μεγέθη των νανοσωματιδίων μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου. Συγκεκριμένα, το μέγεθος των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe προσδιορίστηκε στα  $1222 \pm 251$  nm (Pdl:0,405) και το ζ-δυναμικό προσδιορίστηκε στα -40,2 mV. Το μεγάλο μέγεθος πιθανά οφείλεται σε συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων.



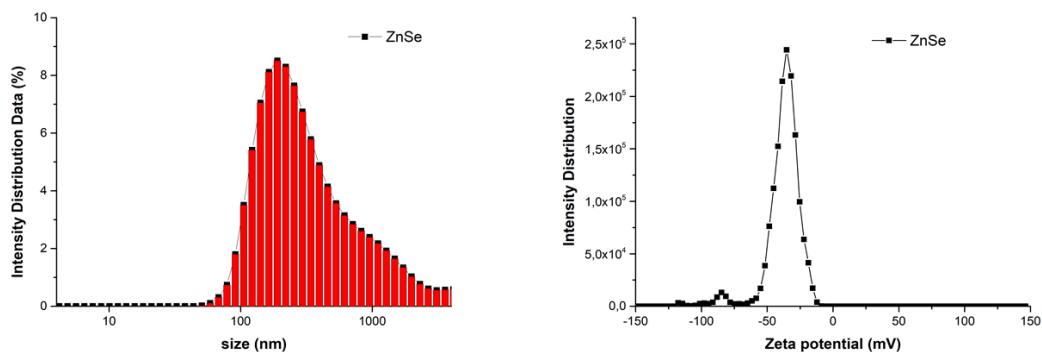
Εικόνα 6.2.4: Διαγράμματα μεγέθους και ζ-δυναμικού (DLS) των νανοσφαιρών P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-EGMA)@ZnSe.

**Πίνακας 6.2.3:** Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

Πολυμερικές νανοσφαίρες	Μέγεθος (Size,nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta Potential (mV)
P(MMA-co-MAA- co-MBA-co- NIPAAm-co- EGMA)@ZnSe	1222 ± 251	0,405	-40,2

#### 6.2.4 Κβαντικές τελείες ZnSe

Πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός των κβαντικών τελειών ZnSe με DLS και προσδιορίστηκε το μέγεθος τους μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου στα 249 nm. Επιπλέον, προσδιορίστηκε και το ζ δυναμικό στα -39,3 mV, το οποίο δείχνει ότι είναι καλό κolloειδές διάλυμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω.



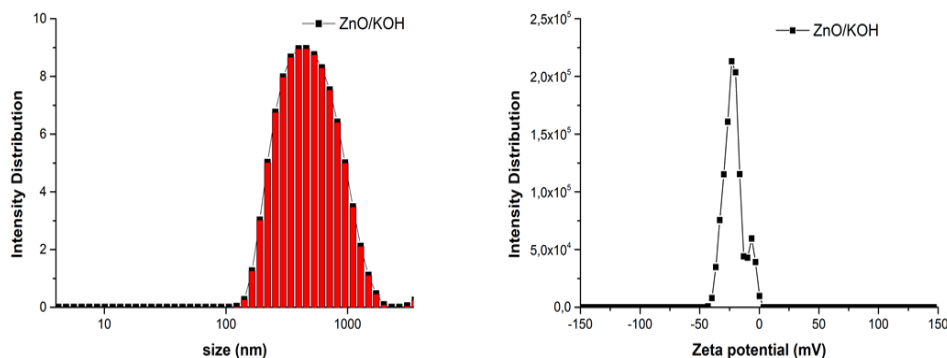
**Εικόνα 6.2.5:** Διαγράμματα ζ-δυναμικού και μεγέθους (DLS) των κβαντικών τελειών ZnSe.

**Πίνακας 6.2.4:** Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

Κβαντικές τελείες	Μέγεθος (size, nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta potential (mV)
ZnSe	252± 490	0,379	-36,8

### 6.2.5 Κβαντικές τελείες ZnO

Το μέγεθος των κβαντικών τελειών προσδιορίστηκε μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου στα 518 nm, ενώ το ζ δυναμικό προσδιορίστηκε στα -21,8 mV, αποδεικνύοντας ένα όχι και τόσο καλό κolloειδές διάλυμα. Αυτό το συμπέρασμα ενισχύεται από την ευρεία κορυφή του διαγράμματος που απεικονίζει το μέγεθος των κβαντικών τελειών.



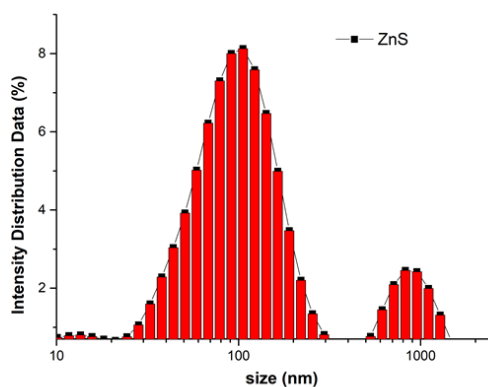
**Εικόνα 6.2.6:** Διαγράμματα μεγέθους και ζ-δυναμικού (DLS) των κβαντικών τελειών ZnO/KOH.

**Πίνακας 6.2.5:** Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

Κβαντικές τελείες	Μέγεθος (size, nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta potential (mV)
ZnO/KOH	521± 300	0,546	-22,9

### 6.2.6 Κβαντικές τελείες ZnS

Το μέγεθος των κβαντικών τελειών ZnS προσδιορίστηκε μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου στα 93 nm (Pdl 0,629), ενώ το ζ δυναμικό στα -36,3 mV. Δεν ήταν δυνατή η διεξαγωγή διαγράμματος του ζ δυναμικού, λόγω του αραιού διαλύματος των κβαντικών τελειών. Παρακάτω φαίνεται το διάγραμμα μεγέθους των τελειών, στο οποίο παρατηρείται πολυδιασπορά, καθώς υπάρχουν 2 κορυφές που αντιπροσωπεύουν διαφορετικού μεγέθους σωματίδια.



Εικόνα 6.2.7: Διαγράμματα μεγέθους (DLS) των κβαντικών τελειών ZnS.

Πίνακας 6.2.6: Αποτελέσματα από διάγραμμα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

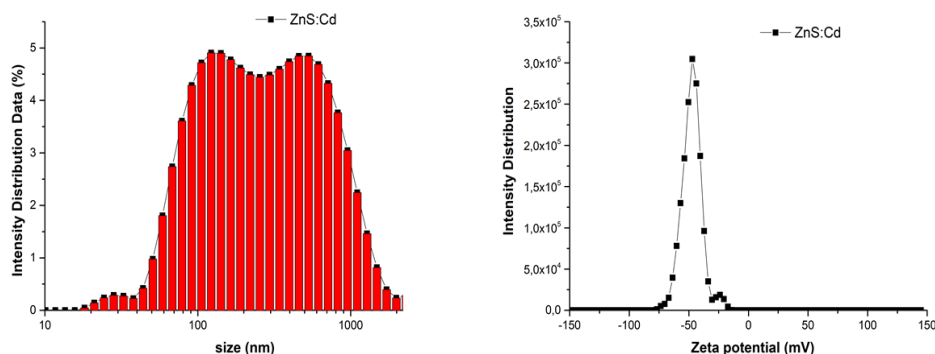
Κβαντικές τελείες	Μέγεθος (size, nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta potential (mV)
ZnS	93± 59	0,629	-36,3

### 6.2.7 Κβαντικές τελείες ZnS:Cd

Πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός των κβαντικών τελειών ZnS:Cd με DLS και προσδιορίστηκε το μέγεθος τους μέσω της υδροδυναμικής διαμέτρου στα 226 nm. Επιπλέον, προσδιορίστηκε και το ζ δυναμικό στα -47,4 mV. Όπως



προκύπτει από τα παρακάτω διαγράμματα υπάρχει συσσωμάτωση των κβαντικών τελειών, καθώς εμφανίζεται διπλή κορυφή. Επιπλέον, παρατηρείται ιδιαίτερα υψηλό δυναμικό, το οποίο δείχνει πολύ καλό κolloειδές διάλυμα.



**Εικόνα 6.2.8:** Διαγράμματα μεγέθους και ζ-δυναμικού (DLS) των κβαντικών τελειών ZnS:Cd.

**Πίνακας 6.2.7:** Αποτελέσματα από διαγράμματα Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (DLS).

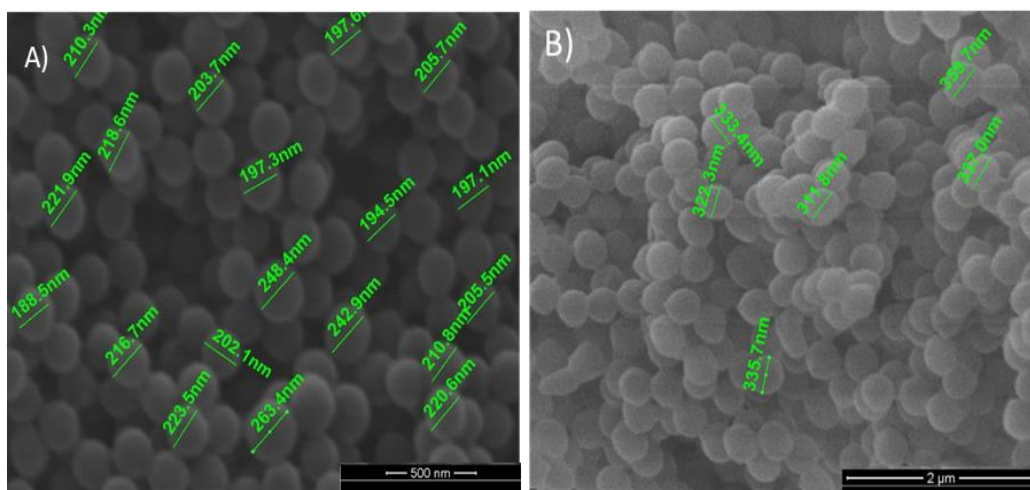
Κβαντικές τελείες	Μέγεθος (size, nm)	Μέσος όρος (Pdl)	Zeta potential (mV)
ZnS:Cd	226	0,737	-47,4

### 6.3 Μορφολογικός χαρακτηρισμός μέσω Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM)

#### 6.3.1 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA)

Ο μορφολογικός χαρακτηρισμός των πολυμερικών νανοσφαιρών πραγματοποιείται μέσω της Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM). Οι Εικόνες ελήφθησαν από το μικροσκόπιο FEI Inspect με νήμα βολφραμίου W (Tungsten) στα 25 kV. Όπως παρατηρείται στις παρακάτω Εικόνες, τα δείγματα αποτελούνται από ομοιόμορφες πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA) και P(MMA-co-MAA-co-MBA) οι οποίες στο πρώτο στάδιο της σύνθεσης πυρήνα κυμαίνονται στα  $197 \pm 20$  nm. Μετά τη διασταυρωμένη σύνδεσή τους επί της

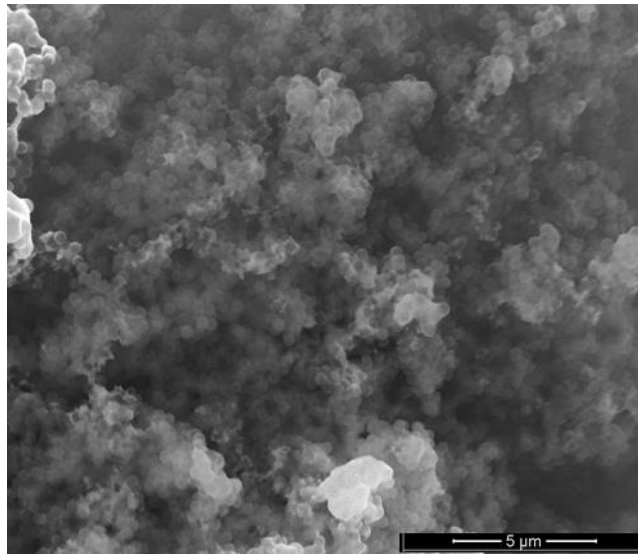
επιφάνειας των σφαιρών, σχηματίζονται οι νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA) και το μέγεθός τους αυξάνεται στα  $312 \pm 20$  nm.



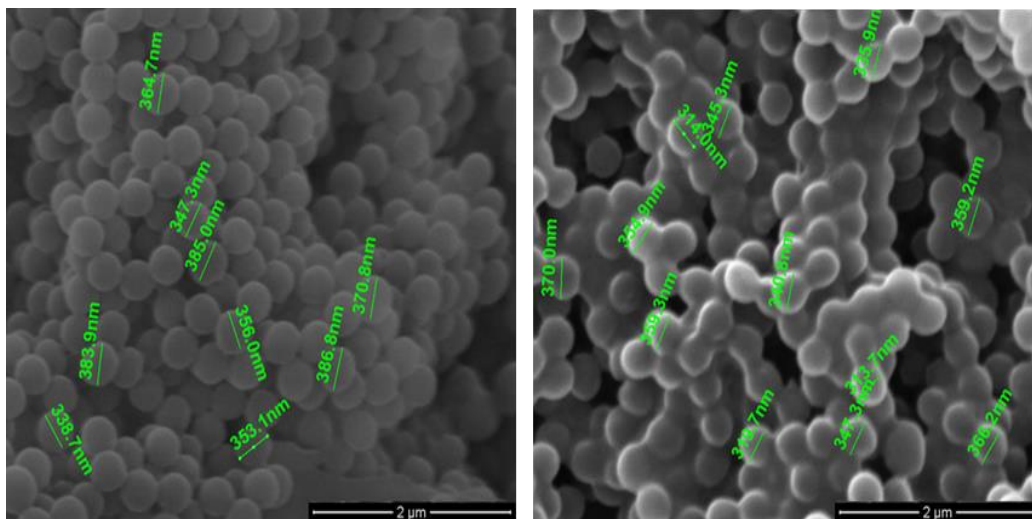
Εικόνα 6.3.1: SEM πολυμερικών νανοσφαιρών A) PMMA και B) P(MMA-co-MAA-co-MBA).

### 6.3.2 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO

Στην παρακάτω Εικόνα φαίνονται οι ομοιόμορφα σφαιρικές πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO. Το μέγεθος των νανοσφαιρών δεν ήταν δυνατό να μετρηθεί μέσω της Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης. Οι επόμενες Εικόνες παρουσιάζουν τις νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO χωρίς ολεϊκό οξύ και τις νανοσφαίρες P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO@ολεϊκό οξύ. Το μέγεθος τους προσδιορίστηκε στα  $350 \pm 30$  nm και  $315 \pm 30$  nm, αντίστοιχα. Η παρουσία του ολεϊκού οξέος φαίνεται ότι ήταν σημαντικός παράγοντας για το μέγεθος των νανοσφαιρών.



**Εικόνα 6.3.2:** SEM πολυμερικών νανοσφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO.

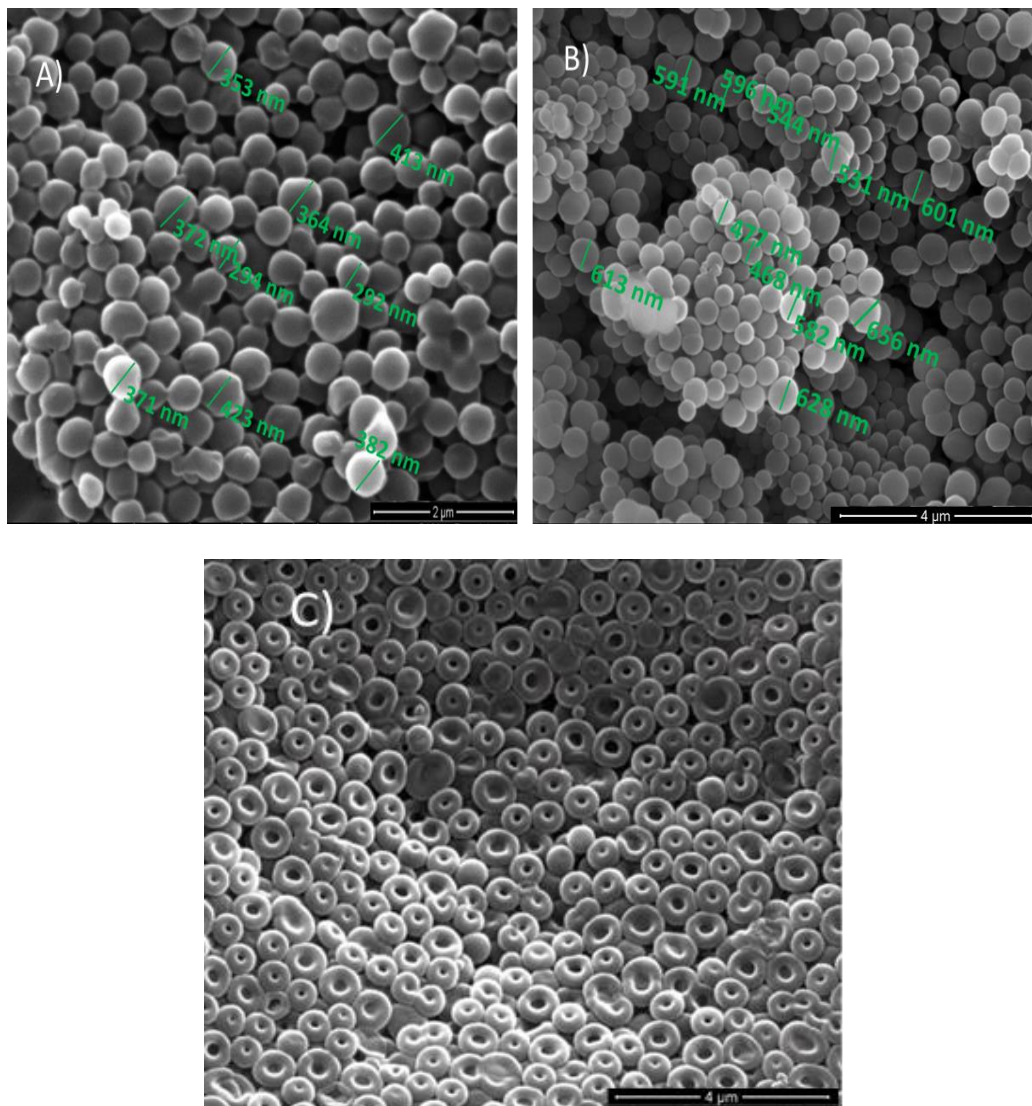


**Εικόνα 6.3.3:** SEM πολυμερικών σφαιρών P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO και P(MMA-co-MAA-co-MBA)@ZnO@Oleic Acid.

### 6.3.3 Πολυμερικές νανοσφαίρες P(MAA-co-MAA)@ZnSe, P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm)@ZnSe, P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe

Η πορεία της σύνθεσης των πολυμερικών νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe απεικονίζεται στις παρακάτω εικόνες SEM. Στην

πρώτη εικόνα φαίνονται οι P(MAA) νανοσφαίρες και στη δεύτερη οι P(MAA) νανοσφαίρες με δομή πυρήνα-κελύφους. Τέλος, στην τρίτη εικόνα γίνεται φανερή η δημιουργία κενών νανοδοχείων.

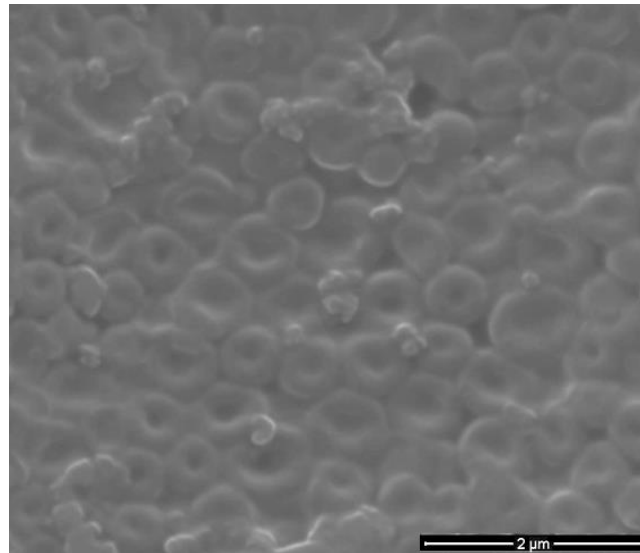


**Εικόνα 6.3.4:** SEM νανοσφαιρών A) P(MAA-co-MBA)@ZnSe, B) P(MAA-co-MAA-co-MBA-co-NIPAAm)@ZnSe, C) P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)@ZnSe.

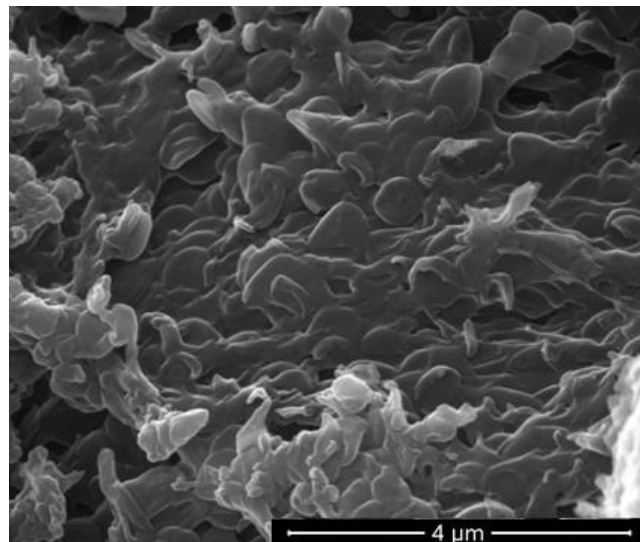
### 6.3.4 Μορφολογικός χαρακτηρισμός πολυμερικών νανοδοχείων μέσω Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας Σάρωσης (SEM)

Παρακάτω απεικονίζονται τα πολυμερικά νανοδοχεία P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EMGA)@ZnSe@ZnS:Mn, P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)ZnSe@ZnS P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)ZnSe@ZnO,

P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EGMA)ZnSe@ZnS:Cd. Οι νανοσφαίρες μετά την αφαίρεση του πυρήνα είναι κενές και μοιάζουν σαν να έχουν τρύπα στη μέση.



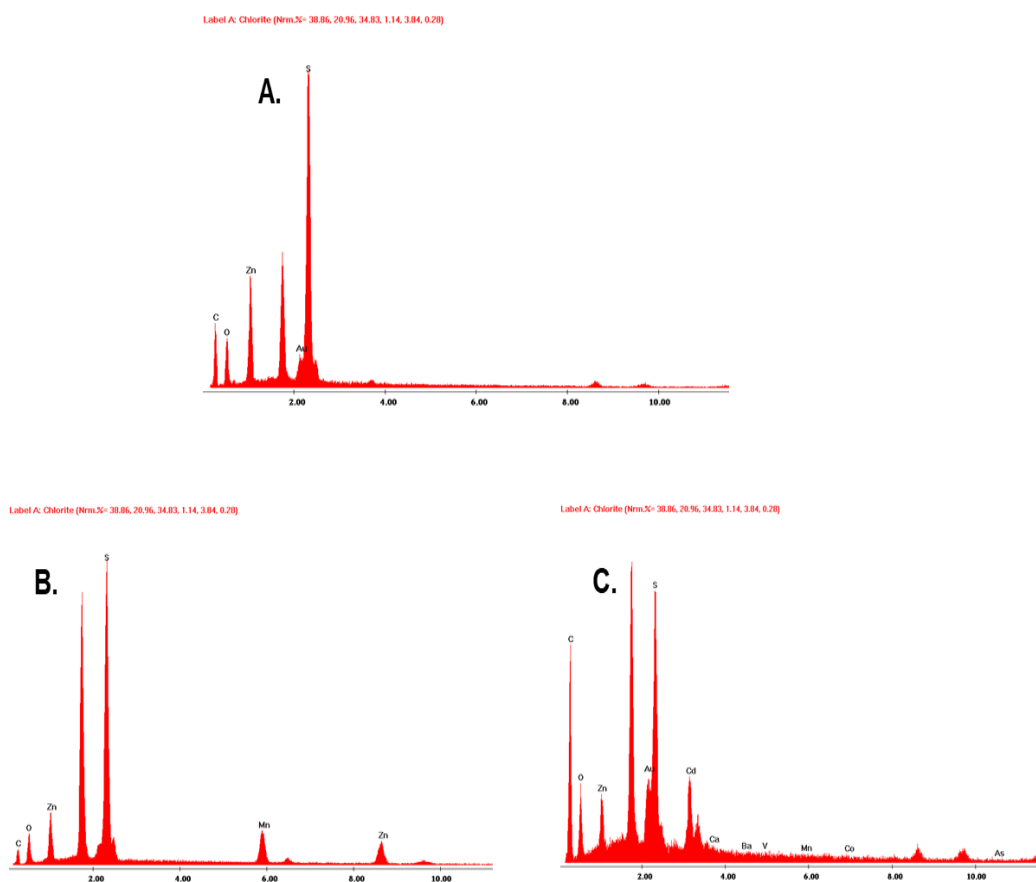
**Εικόνα 6.3.5:** SEM πολυμερικών νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EMGA)@ZnSe@ZnS:Mn.



**Εικόνα 6.3.6:** SEM πολυμερικών νανοδοχείων P(MAA-co-MBA-co-NIPAAm-co-EMGA)@ZnSe@ZnS.

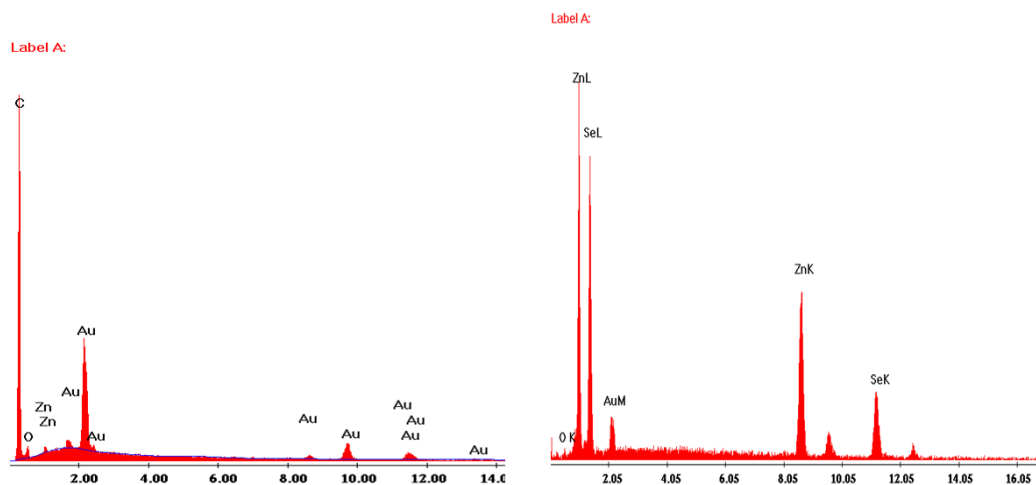
### 6.3.5 Στοιχειακή ανάλυση των κβαντικών τελειών μέσω του Ανιχνευτή Ενεργειακής Διασποράς Ακτίνων Χ (Energy Dispersive X-Ray, EDAX)

Η Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM) μας δίνει πληροφορίες που αφορούν κυρίως στη μορφολογία και στη σύσταση της επιφανείας των νανοσωματιδίων. Ωστόσο, είναι δυνατή η εφαρμογή ενός συστήματος ανίχνευσης της διασποράς των ενεργειών των ακτίνων Χ που δημιουργούνται στην επιφάνεια από την προσπίπτουσα δέσμη. Επομένως, μπορεί να γίνει ποσοτική στοιχειακή ανάλυση των νανοσωματιδίων και συγκεκριμένα των κβαντικών τελειών ZnO@OA, ZnS, ZnS:Mn, ZnS:Cd και ZnSe. Παρακάτω φαίνονται τα φάσματα ακτίνων Χ για την ποιοτική ανάλυση των κβαντικών τελειών.



**Εικόνα 6.3.7:** Φάσμα ακτίνων Χ (EDAX) για την ποιοτική ανάλυση των κβαντικών τελειών A. ZnS, B. ZnS:Mn και C. ZnS:Cd.





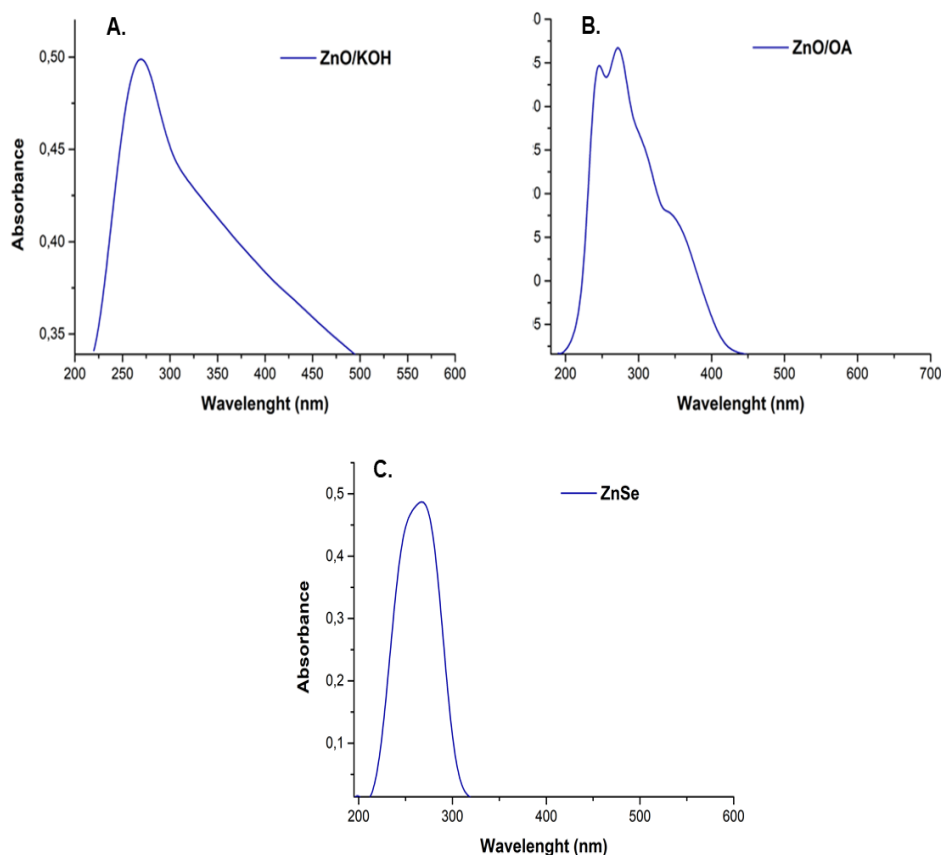
**Εικόνα 6.3.8:** Φάσμα ακτίνων Χ (EDAX) για την ποιοτική ανάλυση των ZnO@OA και ZnSe κβαντικών τελειών.

Σύμφωνα με τα παραπάνω φάσματα, εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι πειραματικές διαδικασίες σύνθεσης των κβαντικών τελειών συμπίπτουν με τα αποτελέσματα. Ωστόσο, δεν ήταν δυνατή η λήψη εικόνων μέσω SEM λόγω του μικρού μεγέθους των κβαντικών τελειών, έτσι πραγματοποιήθηκε μόνο η στοιχειακή τους ανάλυση (EDAX).

#### 6.4 Χαρακτηρισμός με Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis)

Τα φάσματα απορρόφησης των κβαντικών τελειών ελήφθησαν από φασματόμετρο Jasco V-650. Παρακάτω φαίνονται τα φάσματα απορρόφησης των κβαντικών τελειών ZnO/KOH, ZnO@OA και ZnSe. Το φάσμα υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) για τις κβαντικές τελείες ZnO/KOH έχει καταγραφεί από τα 220-500 nm, ενώ για τις τελείες ZnO@OA από 200-450 nm. Η ταινία απορρόφησης τους προσδιορίστηκε στα 270 nm (4,59 eV) και αποδίδεται στην ηλεκτρονιακή μετάβαση  $O_{2p}$  της ζώνης σθένους στη  $Zn_{3d}$  της ζώνης αγωγιμότητας. Για τις κβαντικές τελείες ZnSe, το φάσμα έχει καταγραφεί από 220-320 nm, ενώ η ταινία απορρόφησης προσδιορίστηκε στα 270 nm (4,59 eV)

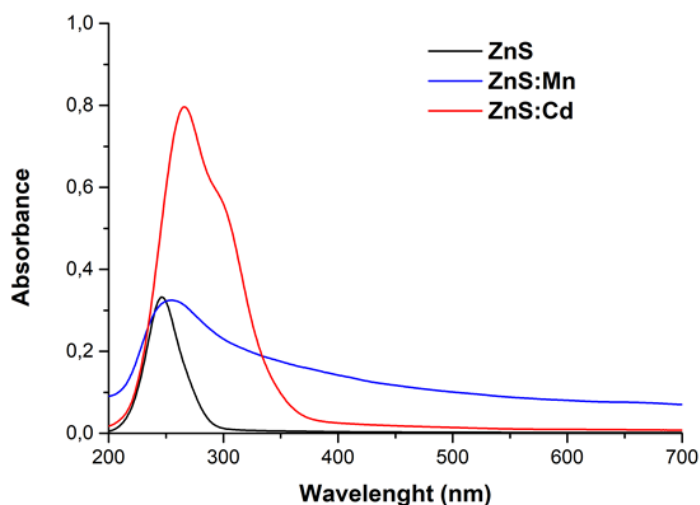
και πιθανά αποδίδεται στην ηλεκτρονιακή μετάβαση από  $S_{3p}$  της ζώνης σθένους στη  $Zn_{3d}$  της ζώνης αγωγιμότητας.



**Εικόνα 6.4.1:** Φάσματα UV-Vis των κβαντικών τελειών A. ZnO/KOH, B. ZnO/OA και C. ZnSe.

Τα φάσματα απορρόφησης για τις κβαντικές τελείες ZnS, ZnS:Mn και ZnS:Cd ελήφθησαν από 200-600 nm. Παρακάτω παρουσιάζεται το συγκριτικό φάσμα UV-Vis μεταξύ των κβαντικών τελειών ZnS, ZnS:Mn και ZnS:Cd. Οι ταινίες απορρόφησης προσδιορίστηκαν αντίστοιχα στα 247 nm (5,02 eV), 255 nm (4,86 eV) και 265 nm (4,68 eV). Οι ταινίες απορρόφησης, πιθανά οφείλονται σε ηλεκτρονιακές μεταβάσεις από εσωτερικές ζώνες της ζώνης σθένους σε εσωτερικές ζώνες της ζώνης αγωγιμότητας των κβαντικών τελειών.





**Εικόνα 6.4.2:** Συγκριτικό φάσμα UV-Vis των κβαντικών τελειών ZnS, ZnS:Mn, ZnS:Cd.

Στον παρακάτω Πίνακα 6.4.1 παρουσιάζονται τα  $\lambda_{\max}$  των ταινιών απορρόφησης των κβαντικών τελειών, καθώς επίσης και οι αντίστοιχες ενέργειες, οι οποίες υπολογίστηκαν σύμφωνα με την εξίσωση:

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

Όπου E η Ενέργεια απορρόφησης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, h η σταθερά του Planck ( $6,63 \cdot 10^{-34}$  J/s), c ( $3 \cdot 10^8$  m/s) η ταχύτητα της ακτινοβολίας και  $\lambda$  το μήκος κύματος της απορρόφησης.

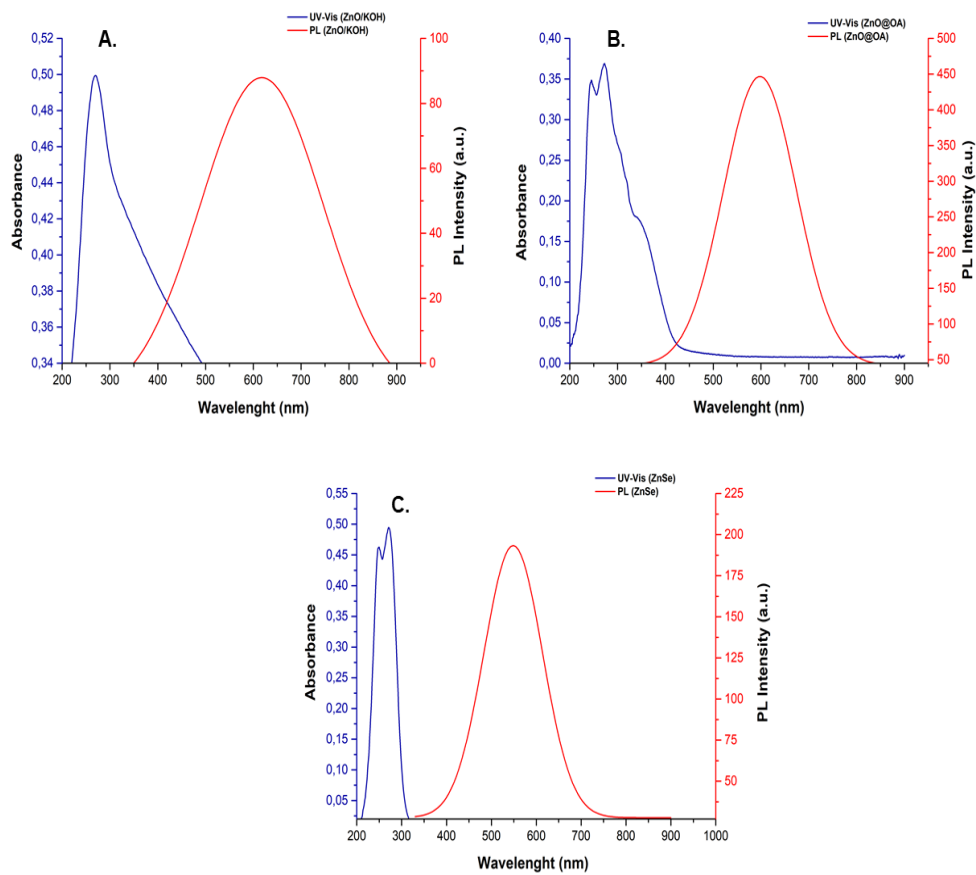
**Πίνακας 6.4.1:** Πίνακας των  $\lambda_{\max}$  και της Ενέργειας απορρόφησης των κβαντικών τελειών.

<b>Qds</b>	<b><math>\lambda_{\max}</math> (nm)</b>	<b><math>E_{\text{απορρόφησης}}</math> (eV)</b>
ZnO@OA	270	4,59
ZnO	270	4,59
ZnS	247	5,02
ZnS:Mn	255	4,86

Qds	$\lambda_{\max}$ (nm)	$E_{\text{απορρόφησης}}$ (eV)
ZnS:Cd	265	4,68
ZnSe	270	4,59

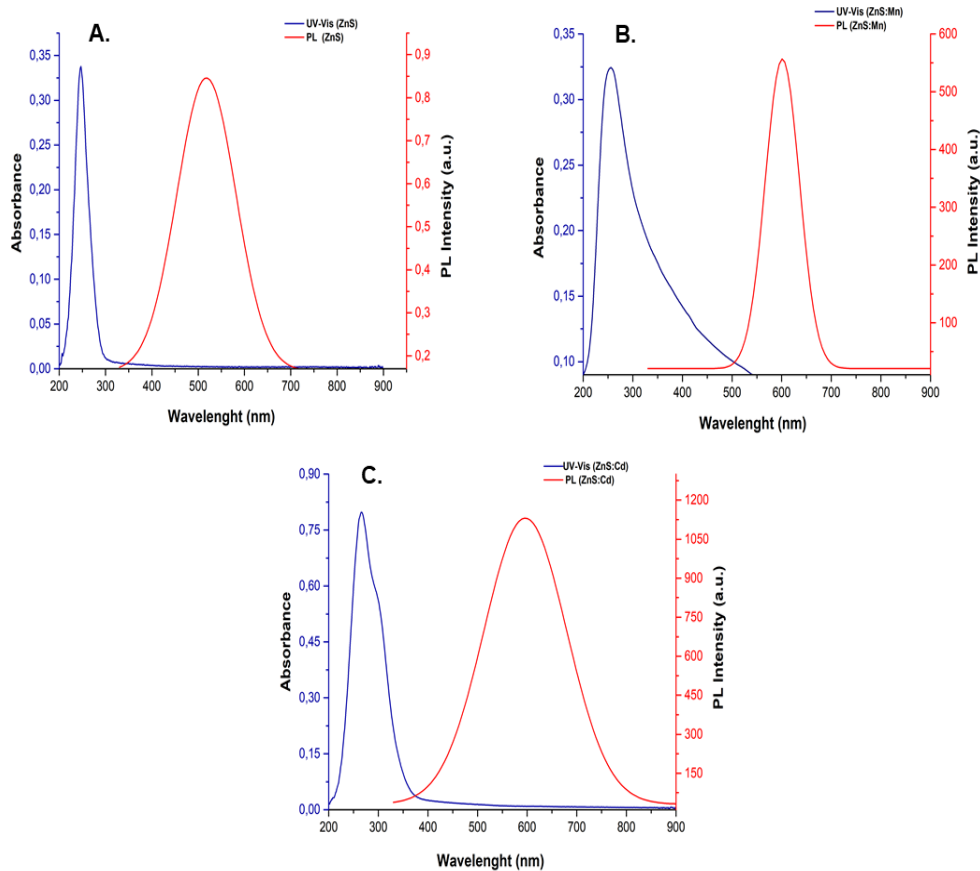
### 6.5 Χαρακτηρισμός με Φασματοσκοπία Φωτοφωταύγειας

Τα φάσματα εκπομπής των κβαντικών τελειών ελήφθησαν από φασματόμετρο Horiba Jobin-Yvon iHR320 με laser He-Cd (325 nm). Στα παρακάτω φάσματα φαίνονται οι ταινίες απορρόφησης και εκπομπής των κβαντικών τελειών ZnO/KOH, ZnO@OA και ZnSe. Οι ταινίες εκπομπής προσδιορίστηκαν, αντίστοιχα στα 618 nm (2 eV), 597 nm (2,07 eV) και 548 nm (2,26 eV). Παρατηρούμε τη μετατόπιση της ταινίας σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, προς το ερυθρό (red shift), άρα σε μικρότερες Ενέργειες, σε σχέση με τα φάσματα απορρόφησης. Αυτή η μετατόπιση, ονομάζεται μετατόπιση κατά Stokes και προκύπτει από την ενεργειακή διαφορά μεταξύ της  $E_{\text{απορρόφησης}}$  και της  $E_{\text{εκπομπής}}$ . Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, μας δίνει πληροφορίες για την αταξία του πλέγματος, καθώς και για τη ροή του φορτίου. Ωστόσο, η προέλευση της μετατόπισης Stokes για τις κβαντικές τελείες, παραμένει ασαφής. Η ταινία εκπομπής των κβαντικών τελειών ZnO, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αποδίδεται σε πλεγματικά κενά από ιόντα  $O^{2-}$ . Η ταινία εκπομπής των κβαντικών τελειών ZnSe, αποδίδεται σε παγίδες ή ατέλειες του πλέγματος [73, 74].



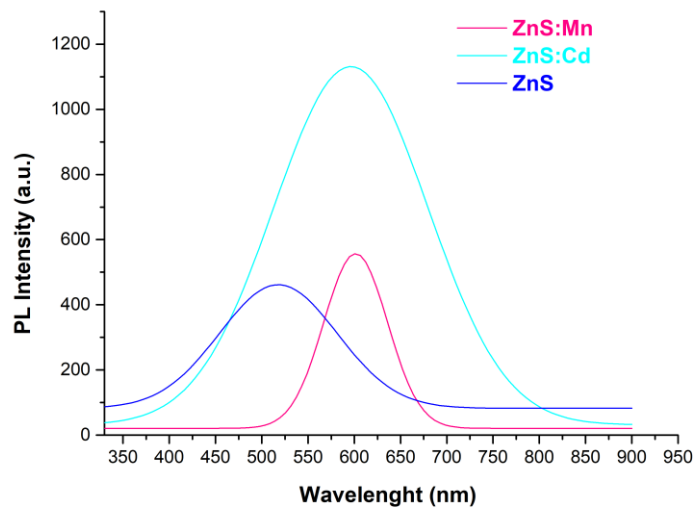
**Εικόνα 6.5.1:** Φάσματα απορρόφησης και εκπομπής των κβαντικών τελειών A. ZnO/KOH B. ZnO/OA και C. ZnSe.

Οι ταινίες εκπομπής για τις κβαντικές τελείες ZnS, ZnS:Mn και ZnS:Cd, προσδιορίστηκαν στα 517 nm (2,4 eV), 600 nm (2,07 eV), 595 nm (2,09 eV), αντίστοιχα. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ταινία εκπομπής των κβαντικών τελειών ZnS αποδίδεται σε δομικές ατέλειες του πλέγματος, όπως πλεγματικά κενά ή παρουσία ενδόθετων ατόμων στο πλέγμα, οι οποίες λειτουργούν ως παγίδες φορέων φορτίου, με μικρότερες ενέργειες και μεγαλύτερα μήκη κύματος. Η ταινία εκπομπής των κβαντικών τελειών ZnS:Mn και ZnS:Cd αποδίδεται στη παρουσία ενδόθετων ατόμων στο πλέγμα.



**Εικόνα 6.5.2:** Φάσματα απορρόφησης και εκπομπής των κβαντικών τελειών A. ZnS, B. ZnS:Mn και C. ZnS:Cd.

Στο παρακάτω συγκριτικό φάσμα εκπομπής φωτοτοωταύγειας των κβαντικών τελειών ZnS, ZnS:Mn και ZnS:Cd, παρατηρούμε την ενίσχυση της έντασης της ταινίας εκπομπής μετά τον εμπλουτισμό των κβαντικών τελειών ZnS με  $\text{Cd}^{2+}$ .



**Εικόνα 6.5.3:** Συγκριτικό φάσμα εκπομπής φωτοφωταύγειας κβαντικών τελειών ZnS, ZnS:Mn και ZnS:Cd.

Στο παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται, συγκεντρωμένα τα  $\lambda_{max}$  των ταινιών εκπομπής, καθώς επίσης και οι ενέργειες εκπομπής των κβαντικών τελειών. Επιπλέον, παρουσιάζονται και οι μετατοπίσεις κατά Stokes, όπως προκύπτουν από τα φάσματα απορρόφησης και εκπομπής (Εικόνα 6.5.1, 6.5.2) των κβαντικών τελειών.

**Πίνακας 6.5.1:** Πίνακας των  $\lambda_{max}$ , της Ενέργειας εκπομπής των κβαντικών τελειών και τις μετατοπίσεις κατά Stokes.

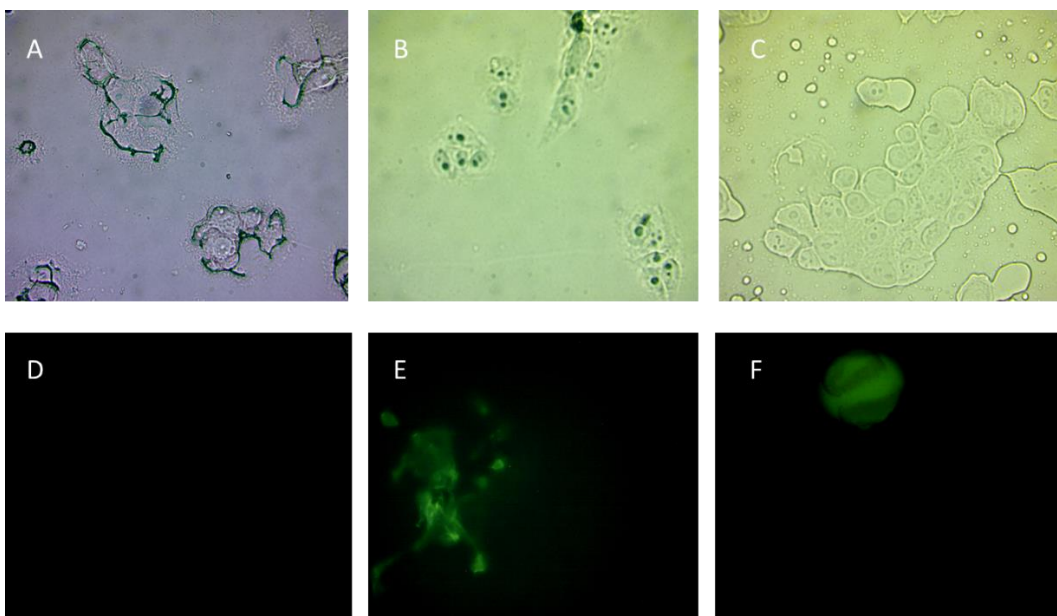
Qds	$\lambda_{max}$ (nm)	$E_{εκπομπής}$ (eV)	Μετατόπιση Stokes (eV) ( $E_{απορρόφησης} - E_{εκπομπής}$ )
ZnO@OA	597	2,07	2,52
ZnO	618	2	2,59
ZnS	517	2,4	2,62
ZnS:Mn	600	2,07	2,79

Qds	$\lambda_{max}$ (nm)	$E_{εκπομπής}$ (eV)	Μετατόπιση Stokes (eV) ( $E_{απορρόφησης} - E_{εκπομπής}$ )
ZnS:Cd	595	2,09	2,59
ZnSe	548	2,26	2,33

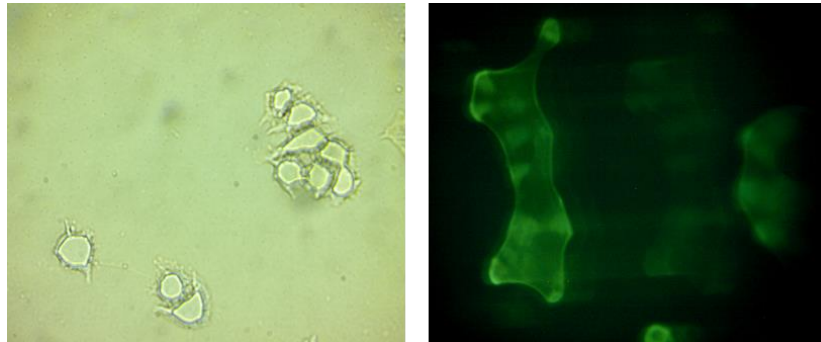
## 6.6 Φωτογραφίες από Μικροσκοπία φθορισμού

Το μικροσκόπιο φθορισμού είναι ένα κοινό μικροσκόπιο στο οποίο όμως το παρασκεύασμα μπορεί να φωτίζεται και με υπεριώδη ακτινοβολία. Οι φακοί των μικροσκοπίων αυτών είναι ειδικής κατασκευής, από γυαλί που δεν εμφανίζει αυτοφθορισμό [75].

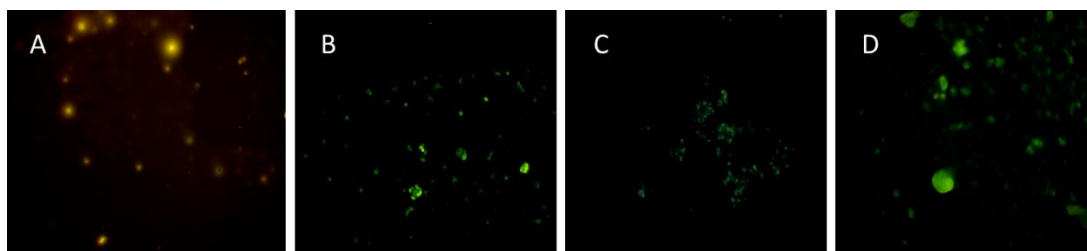
Η κυτταρική πρόσληψη των νανοσωματιδίων ερευνήθηκε με μικροσκόπιο φθορισμού OMAX Trinocular Compound EPI, μοντέλο M834FLR σε μεγέθυνση  $\times 4$ . Τα κύτταρα MCF-7 αναπτύχθηκαν σε πολυτριβλίο 6 θέσεων επί καλυπτρίδων 22 mm όπου περιέχονταν 1,5 ml θρεπτικού υλικού. Η επώαση πραγματοποιήθηκε σε επωαστικό θάλαμο στους 37 °C με παροχή CO<sub>2</sub> 5%, για 24 ώρες. Έπειτα, τα κύτταρα επώαστηκαν για 1 ώρα με τα δείγματα. Τέλος, τα κύτταρα επεξεργάστηκαν για μικροσκοπία φθορισμού, δηλαδή, εκπλύθηκαν δύο φορές με PBS και σταθεροποιήθηκαν με 4% φορμαλδεΐδη σε PBS.



**Εικόνα 6.6.1:** Φωτογραφίες μικροσκοπίου φθορισμού για A: MCF-7 Control χωρίς φθορισμό, B: core-shell P(MAA)@ZnS σε MCF-7 χωρίς φθορισμό, C: core-shell P(MAA)@ZnS: Cd χωρίς φθορισμό, D: MCF-7 Control, E: core-shell P(MAA)@ZnS σε MCF-7 με φθορισμό και F: core-shell P(MAA)@ZnS: Cd με φθορισμό.



**Εικόνα 6.6.2:** Φωτογραφίες μικροσκοπίου φθορισμού για core-shell P(MAA)@ZnO σε MCF-7, αριστερά χωρίς φθορισμό και δεξιά με φθορισμό.



**Εικόνα 6.6.3:** Φωτογραφίες μικροσκοπίου φθορισμού για τις κβαντικές τελείες A: ZnSe, B: ZnS, C: ZnS/GSH, D: ZnS:Mn.

Το συμπέρασμα που προκύπτει από τις παραπάνω εικόνες είναι ότι τόσο τα πολυμερικά νανοδοχεία τα οποία τροποποιήθηκαν με κβαντικές τελείες, σε κυτταρικές σειρές MCF-7, όσο και οι κβαντικές τελείες, φθορίζουν. Αυτό αποτελεί μια ένδειξη ότι είναι κατάλληλα για βιοαπεικόνιση και θεραπευτικές εφαρμογές.

## 6.7 Χαρακτηρισμός με Περίθλαση Ακτίνων-X (X-Ray Diffraction, XRD)

Για τον περαιτέρω δομικό χαρακτηρισμό των κβαντικών τελειών, έγιναν μετρήσεις φασματοσκοπίας περίθλασης ακτίνων X, με διαθλασίμετρο σκόνης

SIEMENS D 500, στις κβαντικές τελείες ZnO. Λόγω των τεχνικών δυσκολιών που παρουσιάστηκαν, δεν πραγματοποιήθηκε δομικός χαρακτηρισμός XRD για όλες τις κβαντικές τελείες. Στο παρακάτω γράφημα των κβαντικών τελειών ZnO παρατηρούνται χαρακτηριστικές κορυφές οι οποίες αποδίδονται σε κρυσταλλικές δομές ZnO. Συγκεκριμένα φαίνονται τα κρυσταλλικά επίπεδα (100), (002), (101), (110), (103), (112), τα οποία είναι χαρακτηριστικά για τη δομή βουρτσίτη. Η διάμετρος των κβαντικών τελειών υπολογίστηκε από τη θεωρητική εξίσωση Scherrer's, στα 31 nm.

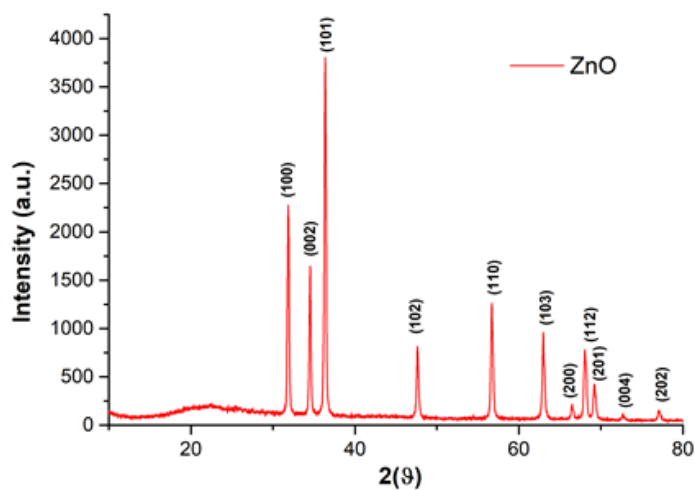
$$Dp = \frac{K \lambda}{(B \cos \theta)}$$

Όπου, Dp ο μέσος όρος μεγέθους, K=0,94 η σταθερά Scherrer's, υποθέτοντας ότι έχουμε σφαιρικό σχήμα και  $\lambda=1,54178$  το μήκος κύματος, B (Full Width at Half Maximum, FWHM) και  $\theta$  η θέση της κορυφής. Στο παρακάτω πίνακα φαίνονται οι κορυφές  $2\theta$  (°) που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της διαμέτρου των κβαντικών τελειών ZnO.

**Πίνακας 6.7.1:** Πίνακας των δεδομένων υπολογισμού της διαμέτρου των κβαντικών τελειών.

Κορυφή $2\theta$ (°)	FWHM B (°)	Miller	Dp (nm)
31,94	0,25	100	34,55
34,5	0,24	002	36,23
36,36	0,25	101	34,96
47,59	0,31	102	29,27
56,8	0,32	110	29,5
62,98	0,32	103	30,43
68,13	0,41	112	24,45



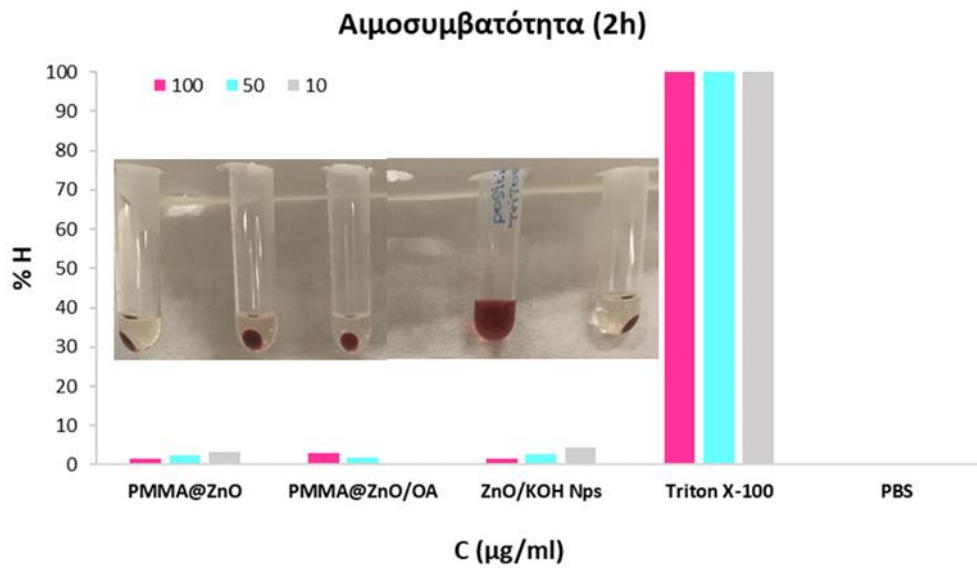


Εικόνα 6.7.1: Γράφημα XRD των κβαντικών τελειών ZnO [76].

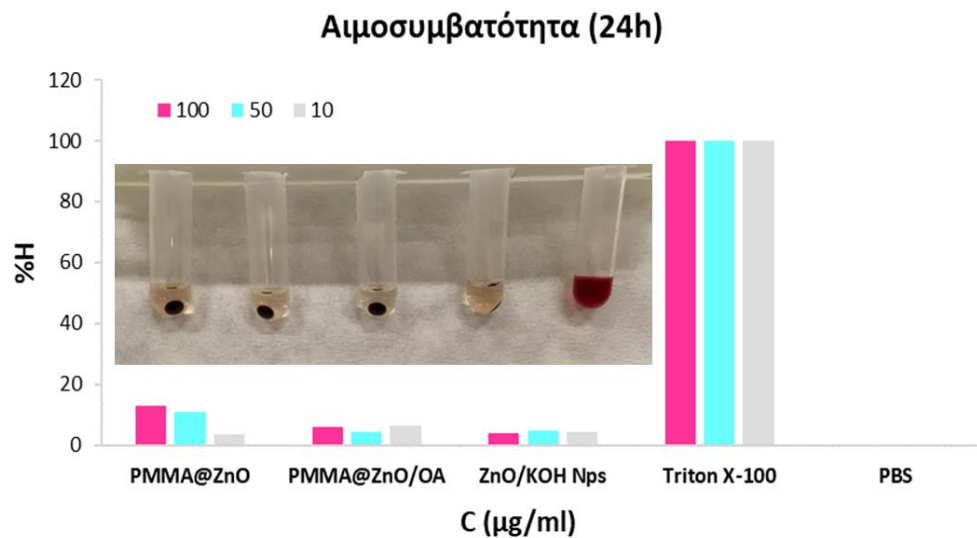
## 6.8 Βιολογική αξιολόγηση

### 6.8.1 Αποτελέσματα αιμοσυμβατότητας

Σύμφωνα με την εξίσωση που αναφέρεται στο υποκεφάλαιο 4.2.4, η αιμόλυση των ερυθροκυττάρων που προκαλείται μετά την επώαση με τις πολυμερικές νανοσφαίρες P(MMA)@ZnO, P(MMA)@ZnO/OA και με τις κβαντικές τελείες ZnO φαίνεται στα παρακάτω διαγράμματα:



**Εικόνα 6.8.1:** Διάγραμμα αιμόλυσης στις 2 ώρες για τις συγκεντρώσεις (µg/ml) 100:3,2 % αιμόλυση, 50:2,7 % αιμόλυση και 10:4,5 % αιμόλυση.



**Εικόνα 6.8.2:** Διάγραμμα αιμόλυσης στις 24 ώρες για τις συγκεντρώσεις (µg/ml) 100:13 % αιμόλυση, 50:11,1 % αιμόλυση και 10:6,3 % αιμόλυση.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα, η αιμόλυση που προκαλούν τα νανοσωματίδια είναι μικρή. Επομένως, η αιμοσυμβατότητά τους είναι εξαιρετικά καλή, γεγονός που ενισχύει τον βασικό σκοπό της σύνθεσής τους, καθιστώντας

τα ιδανικά για θεραπευτικές εφαρμογές. Τα αποτελέσματα με τα ποσοστά αιμόλυσης φαίνονται συγκεντρωτικά στους παρακάτω πίνακες (6.9.1 & 6.9.2):

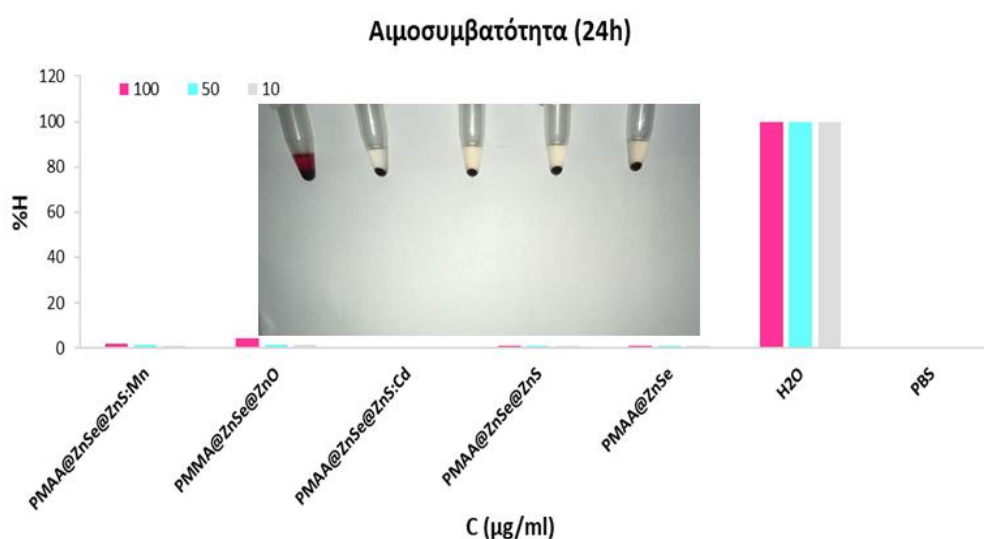
**Πίνακας 6.8.1:** Αποτελέσματα αιμόλυσης των νανοσωματιδίων στις 2 ώρες.

<b>2 ώρες</b>					
<b>C (μg/ml)</b>	<b>P(MMA)@ZnO</b>	<b>P(MMA)@ZnO/OA</b>	<b>ZnO/KOH</b>	<b>Triton-X</b>	<b>PBS</b>
<b>100</b>	1,67 %	2.93 %	1,42 %	100 %	0
<b>50</b>	2,43 %	1,92 %	2,68 %	100 %	0
<b>10</b>	3,18 %	0	4,52 %	100 %	0

**Πίνακας 6.8.2:** Αποτελέσματα αιμόλυσης των νανοσωματιδίων στις 24 ώρες.

<b>24 ώρες</b>					
<b>C (μg/ml)</b>	<b>P(MMA)@ZnO</b>	<b>P(MMA)@ZnO/OA</b>	<b>ZnO/KOH</b>	<b>Triton-X</b>	<b>PBS</b>
<b>100</b>	13,05 %	6,03 %	4,1 %	100 %	0
<b>50</b>	11,13 %	4,27 %	4,7%	100 %	0
<b>10</b>	3,59 %	6,28	4,27 %	100 %	0

Επιπλέον, το πείραμα της αιμόλυσης πραγματοποιήθηκε και για τις πολυμερικές νανοσφαίρες PMAA@ZnSe@ZnS:Mn, PMAA@ZnSe@ZnO, PMAA@ZnSe@ZnS:Cd, PMAA@ZnSe:ZnS, PMAA@ZnSe και τα αποτελέσματα φαίνονται παρακάτω στο διάγραμμα (6.9.3) και στον πίνακα (6.9.3) με τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα:



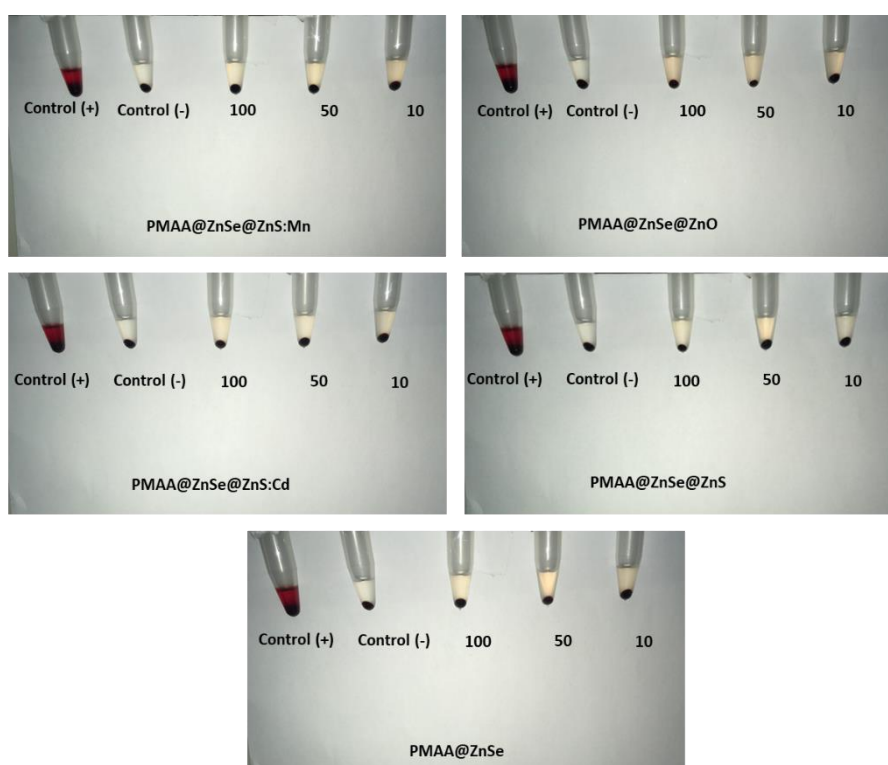
**Εικόνα 6.8.3:** Διάγραμμα αιμόλυσης στις 24 ώρες για τις συγκεντρώσεις 100, 50 και 10 (µg/ml).

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα της αιμόλυσης, εξάγεται το συμπέρασμα πως οι πολυμερικές νανοσφαίρες εμπλουτισμένες με τις κβαντικές τελείες είναι βιοσυμβατές με το ανθρώπινο αίμα, καθώς τα ποσοστά αιμόλυσης είναι ιδιαίτερα χαμηλά. Παρακάτω παρουσιάζονται οι φωτογραφίες μετά το πείραμα της αιμόλυσης στις 24 ώρες που ενισχύουν αυτό το συμπέρασμα.

**Πίνακας 6.8.3:** Αποτελέσματα αιμόλυσης των νανοσωματιδίων στις 24 ώρες.

<b>24 ώρες</b>				
<b>Νανοσφαίρες-Control</b>	<b>C (µg/ml)</b>			
	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>10</b>	<b>Μέσος όρος</b>
<b>PMAA@ZnSe@ZnS:Mn</b>	1,94%	1,69%	1,86%	1,61%
<b>PMAA@ZnSe@ZnO</b>	4,40%	1,44%	1,44%	2,43%
<b>PMAA@ZnSe@ZnS:Cd</b>	0,67%	0,42%	0,67%	0,59%

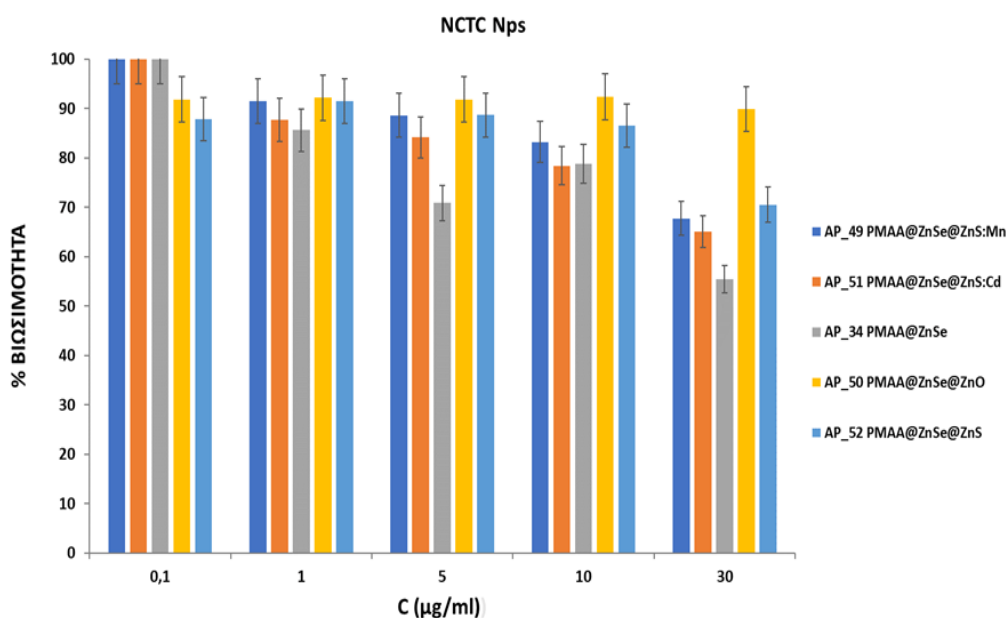
24 ώρες				
Νανοσφαίρες-Control	C (μg/ml)			
	100	50	10	Μέσος όρος
<b>PMAA@ZnSe@ZnS</b>	0,93%	0,93%	0,93%	0,93%
<b>PMAA@ZnSe</b>	0,93%	1,18%	0,93%	1,02%
<b>PBS</b>	0	0	0	0
<b>H<sub>2</sub>O</b>	100%	100%	100%	100%



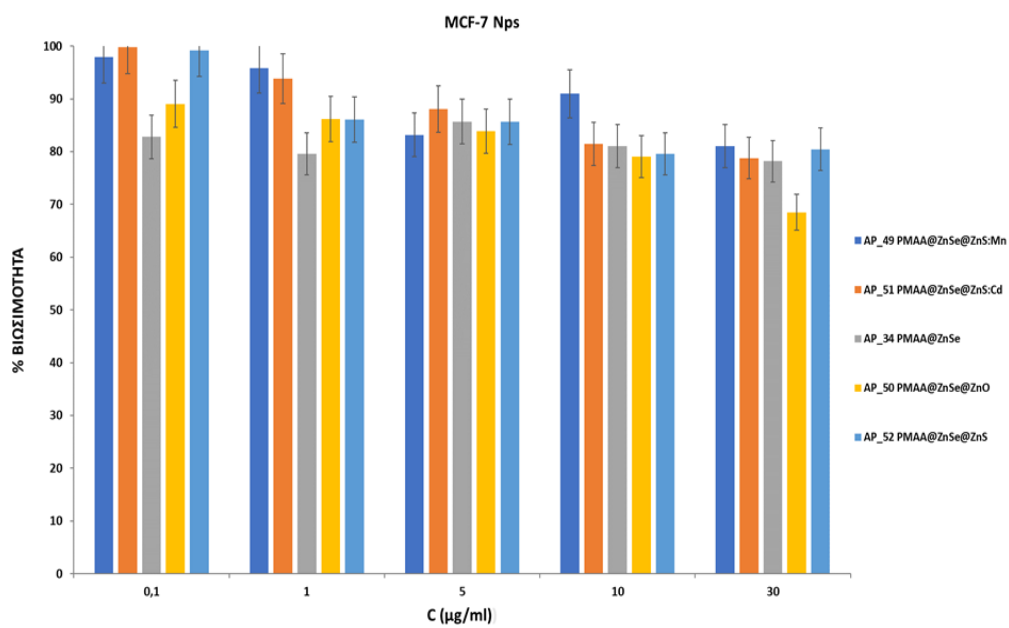
Εικόνα 6.8.4: Φωτογραφίες αιμόλυσης μετά από 24 ώρες.

### 6.8.2 Αποτελέσματα κυτταροτοξικότητας (MTT)

Με τη μέθοδο MTT προσδιορίστηκε η επαγόμενη κυτταροτοξικότητα μετά από επώαση των νανοϋλικών τόσο με υγιή όσο και με καρκινικά κύτταρα. Σύμφωνα με τη σχέση που περιγράφεται στο υποκεφάλαιο 4.2.3, προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα για το ποσοστό της βιωσιμότητας των κυττάρων NCTC και MCF-7, παρουσία των πολυμερικών νανοδοχείων εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες. Το ποσοστό βιωσιμότητας των κυτταρικών σειρών, βρίσκεται σε αρκετά υψηλά επίπεδα, ακόμη και στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις.



**Εικόνα 6.8.5:** Διάγραμμα MTT σε κύτταρα NCTC παρουσία πολυμερικών νανοδοχείων, εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες, για τις συγκεντρώσεις 30, 10, 5, 1, 0,1 (µg/ml).



**Εικόνα 6.8.6:** Διάγραμμα MTT σε κύτταρα MCF-7 παρουσία πολυμερικών νανοδοχείων, εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες, για τις συγκεντρώσεις 30, 10, 5, 1, 0,1 (µg/ml).





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### Συμπεράσματα

Στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν η σύνθεση πολυμερικών νανοδοχείων εμπλουτισμένων με κβαντικές τελείες για βιολογικές εφαρμογές, όπως η βιοαπεικόνιση. Για το λόγο αυτό, τα νανοσωματίδια θα πρέπει να έχουν μικρό μέγεθος και να παρουσιάζουν έντονο φθορισμό, μειωμένη τοξικότητα και τη δυνατότητα να εισέρχονται στα κύτταρα.

Συνολικά, χαρακτηρίστηκαν και αξιολογήθηκαν ως προς τις ιδιότητές τους, πέντε είδη κβαντικών τελειών: ZnO, ZnS, ZnS:Mn, ZnS:Cd και ZnSe. Ο μορφολογικός και δομικός χαρακτηρισμός βρίσκονται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία, υποδεικνύοντας πως έχει επιτευχθεί η σωστή δομή και σύσταση. Ο χαρακτηρισμός με Περίθλαση ακτίνων Χ, αποδεικνύει την ύπαρξη κρυσταλλικής δομής και συγκεκριμένα, την ύπαρξη δομής βουρτσιτή. Ωστόσο, οι περισσότερες κβαντικές τελείες χρήζουν περισσότερης ανάλυσης.

Επιπλέον, συντέθηκαν με τη μέθοδο του ριζικού πολυμερισμού καταβύθισης μέσω απόσταξης και μέσω πολυμερισμού γαλακτώματος και χαρακτηρίστηκαν κενές πολυμερικές νανοσφαίρες στις οποίες ενθυλακώθηκαν οι κβαντικές τελείες. Μέσω του δομικού αλλά και μορφολογικού χαρακτηρισμού συμπεραίνεται ότι πρόκειται για μονοδιεσπαρμένες νανοσφαίρες. Επιπροσθέτως, πραγματοποιήθηκε ενθυλάκωση φαρμάκου που απέδειξε μεγάλο ποσοστό ενθυλάκωσης στα πολυμερικά νανοδοχεία. Κύριος λόγος της χρήσης τους είναι η βιοσυμβατότητα που έχουν εξαιτίας της επικάλυψής τους με διάφορα συμπολυμερή.

Όσον αφορά τη βιολογική αξιολόγηση των παραπάνω νανοσωματιδίων, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αιμοσυμβατότητας τους με το πείραμα της αιμόλυσης, καθώς και έλεγχος της βιωσιμότητας των κυττάρων μέσω της μεθόδου MTT. Από τα αποτελέσματα της αιμόλυσης, εξάγεται το συμπέρασμα ότι τόσο οι κβαντικές τελείες και οι πολυμερικές νανοσφαίρες, όσο και ο συνδυασμός τους είναι βιοσυμβατά με το ανθρώπινο αίμα, αποδεικνύοντας ορθό των αρχικό στόχο αυτής της διπλωματικής εργασίας. Σύμφωνα με τα

αποτελέσματα της μεθόδου MTT, το ποσοστό βιωσιμότητας των κυττάρων βρίσκεται σε αρκετά υψηλό επίπεδο, ακόμη και στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των νανοσωματιδίων. Ωστόσο, ένα μειονέκτημα της μεθόδου MTT, είναι ότι δεν μπορεί να γίνει διαχωρισμός μεταξύ μίας κυτταροτοξικής (κυτταρικός θάνατος) και μίας κυτταροστατικής (μείωση ρυθμού ανάπτυξης) επίδρασης, για αυτό το λόγο χρειάζονται επιπρόσθετες βιολογικές μελέτες.

## Πίνακας Ορολογίας

Πίνακας 6.8.1.1: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων.

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Quantum dots	Κβαντικές τελείες
Bottom up	Από κάτω προς τα πάνω
Bottom down	Από πάνω προς τα κάτω
Sol-gel	Πήκτωμα -Λύμα
Bulk	Ογκώδες
Living polymerization	Ζωντανός πολυμερισμός
Initiators	Εκκινητές
Cell tracking	Ανίχνευση κυττάρων
Gap	Χάσμα
Steric effects	Στερικά φαινόμενα

## Συντμήσεις – Αρκτικόλεξα – Ακρωνύμια

### Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους

QDs	Quantum Dots
DLS	Dynamic Light Scattering
FT-IR	Fourier Transform-Infrared Spectroscopy
SEM	Scanning Electron Microscope
TEM	Transmission Electron Microscope
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide
STM	Scanning Tunneling Microscope
AFM	Atomic Force Microscope
PMMA	Polymethylmethacrylate
PMAA	Polymethacrylic Acid
PAA	Polyacrylic Acid
PEAA	Poly (2-ethylacrylic Acid)
PPAA	Poly (Propyl Acrylic Acid)
PDMAEMA	Poly (N, N-Dimethylaminoethyl Methacrylate)
PDEAEMA	Poly (Diethylaminoethyl Methacrylate)
PBAA	Polybutadiene Acrylic Acid
PNIPAM	Poly(N-Isopropylacrylamide)
PGA	Polyglycolic Acid
PL	Photoluminescence
TOPO	Tri-n-Octyl Phosphate Oxide
BSA	Bovine Serum Albumin
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
PET	Positron Emission Tomography
MRI	Magnetic Resonance Imaging
NIR	Near Infrared Spectroscopy
MOCVD	Metalorganic Chemical Vapor Deposition
EPR	Enhanced Permeability and Retention Effect
AIBN	Azobisisobutyronitrile
BPO	Benzoyl Peroxide

## Βιβλιογραφία

1. Bao, G., S. Mitragotri, and S. Tong, Multifunctional nanoparticles for drug delivery and molecular imaging. *Annu Rev Biomed Eng*, 2013. **15**: p. 253-82.
2. Lim, E.K., B.H. Chung, and S.J. Chung, Recent Advances in pH-Sensitive Polymeric Nanoparticles for Smart Drug Delivery in Cancer Therapy. *Curr Drug Targets*, 2018. **19**(4): p. 300-317.
3. Reshma, V.G. and P.V. Mohanan, Quantum dots: Applications and safety consequences. *Journal of Luminescence*, 2019. **205**: p. 287-298.
4. Hulla, J.E., Sahu, S. C. Hayes, A. W., *Nanotechnology: History and future. Hum Exp Toxicol*, 2015. **34**(12): p. 1318-1321.
5. Feynman, R.P., Feynman: There's plenty of room at the bottom *Journal of Microelectromechanical Systems*, 1992. **1**(1): p. 60-66.
6. Nunes, D., Pimentel, Ana Santos, Lidia Barquinha, Pedro Pereira, Luis Fortunato, Elvira Martins, Rodrigo, *Metal Oxide Nanostructures. Elsevier*, 2019: p. 1-19.
7. Saallah, S., Lenggoro, Wuled, *Nanoparticles Carrying Biological Molecules: Recent Advances and Applications. KONA Powder and Particle Journal*, 2018.
8. Pitkethly, M.J., *Nanomaterials – the driving force. Materials Today*, 2004. **7**(12): p. 20-29.
9. Bhatia, S., *Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications. 2016*: p. 33-93.
10. Rao, C.N.R. and A.K. Cheetham, Science and technology of nanomaterials: current status and future prospects. *Journal of Materials Chemistry*, 2001. **11**(12): p. 2887-2894.
11. Myrtil Simko, M.N., Ulrich Fiedeler, André Gzásó, *Production of nanoparticles and nanomaterials. NanoTrust-Dossier*, 2011. **006en**.
12. D.I., L., V.V., Dzidziguri, E.L. and Glukhova, O.E, *Classification of Nanomaterials. 2017*: p. 27-56.
13. Rao, J.P. and K.E. Geckeler, *Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. Progress in Polymer Science*, 2011. **36**(7): p. 887-913.
14. Tibbals, H.F., *Medical Nanotechnology and Nanomedicine. Taylor & Francis Group*, 2011: p. 499.
15. Ramos, A.P., et al., *Biomedical applications of nanotechnology. Biophysical reviews*, 2017. **9**(2): p. 79-89.
16. Nikalje, A.P., *Nanotechnology and its Applications in Medicine. Medicinal Chemistry*, 2015. **5**(2).

17. Pu, Y., et al., *Colloidal Synthesis of Semiconductor Quantum Dots toward Large-Scale Production: A Review. Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2018. **57**(6): p. 1790-1802.
18. Bera, D., et al., *Quantum Dots and Their Multimodal Applications: A Review. Materials*, 2010. **3**(4): p. 2260-2345.
19. Smith, A.M., et al., *Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging. Adv Drug Deliv Rev*, 2008. **60**(11): p. 1226-40.
20. Petryayeva, E.A., W. R. Medintz, I. L., *Quantum dots in bioanalysis: a review of applications across various platforms for fluorescence spectroscopy and imaging. Applied Spectroscopy*, 2013. **67**(3): p. 215-52.
21. Rosenthal, S.J.C., J. C. Kovtun, O. McBride, J. R. Tomlinson, I. D., *Biocompatible quantum dots for biological applications. Elsevier*, 2011. **18**(1): p. 10-24.
22. Niladri Shekhar Dey, M.E.B.R., *Quantum Dot: Novel Carrier for Drug Delivery. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2011. **2**.
23. Norris, D.J.E., A. L. Erwin, S. C., *Doped nanocrystals. Science*, 2008. **319**(5871): p. 1776-1779.
24. Minoru Fujii, Y.Y., Yuji Takase, Keiichi Ninomiya, and Shinji Hayash, *Photoluminescence from impurity codoped and compensated Si nanocrystals. Applied Physics Letters*, 2005. **87**.
25. Gamelin, J.D.B.a.D.R., *Doped Semiconductor Nanocrystals: Synthesis, Characterization, Physical Properties, and Applications. Progress in Inorganic Chemistry*, 2005. **54**: p. 47-126.
26. Radovanovic, P.V. and D.R. Gamelin, *Electronic Absorption Spectroscopy of Cobalt Ions in Diluted Magnetic Semiconductor Quantum Dots: Demonstration of an Isocrystalline Core/Shell Synthetic Method. Journal of the American Chemical Society*, 2001. **123**(49): p. 12207-12214.
27. Orlinskii, S.B.S., J. Baranov, P. G. Hofmann, D. M. de Mello Donega, C. Meijerink, A., *Probing the wave function of shallow Li and Na donors in ZnO nanoparticles. Physical Review Letters*, 2004. **92**(4): p. 047603.
28. Murugadoss, A. and A. Chattopadhyay, *Tuning photoluminescence of ZnS nanoparticles by silver. Bulletin of Materials Science*, 2008. **31**(3): p. 533-539.
29. Erwin, S.C., et al., *Doping semiconductor nanocrystals. Nature*, 2005. **436**(7047): p. 91-4.
30. Pradhan, N., et al., *An Alternative of CdSe Nanocrystal Emitters: Pure and Tunable Impurity Emissions in ZnSe Nanocrystals. Journal of the American Chemical Society*, 2005. **127**(50): p. 17586-17587.
31. Bhargava, R.N., *Doped nanocrystalline materials — Physics and applications. Journal of Luminescence*, 1996. **70**(1): p. 85-94.

32. Harrison, M.T., et al., *Wet Chemical Synthesis of Highly Luminescent HgTe/CdS Core/Shell Nanocrystals*. *Advanced Materials*, 2000. **12**(2): p. 123-125.
33. Wang, Y. and N. Herron, *Nanometer-sized semiconductor clusters: materials synthesis, quantum size effects, and photophysical properties*. *The Journal of Physical Chemistry*, 1991. **95**(2): p. 525-532.
34. Ma, N.Y., Jun Stewart, Kelly M. Kelley, Shana O., *DNA-Passivated CdS Nanocrystals: Luminescence, Bioimaging, and Toxicity Profiles*. *Langmuir*, 2007. **23**(26): p. 12783-12787.
35. Talapin, D.V., et al., *CdSe/CdS/ZnS and CdSe/ZnSe/ZnS Core-Shell-Shell Nanocrystals*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2004. **108**(49): p. 18826-18831.
36. Chan, W.C.M., D. J. Gao, X. Bailey, R. E. Han, M. Nie, S., *Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging*. *Current Opinion Biotechnology*, 2002. **13**(1): p. 40-6.
37. Frasco, M.F. and N. Chaniotakis, *Semiconductor quantum dots in chemical sensors and biosensors*. *Sensors (Basel)*, 2009. **9**(9): p. 7266-86.
38. Bilan, R., I. Nabiev, and A. Sukhanova, *Quantum Dot-Based Nanotools for Bioimaging, Diagnostics, and Drug Delivery*. *ChemBiochem*, 2016. **17**(22): p. 2103-2114.
39. Medintz, I.L.U., H. T. Goldman, E. R. Mattoussi, H., *Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing*. *Nature Materials*, 2005. **4**(6): p. 435-46.
40. Jamieson, T., et al., *Biological applications of quantum dots*. *Biomaterials*, 2007. **28**(31): p. 4717-32.
41. Gao, X.Y., L. Petros, J. A. Marshall, F. F. Simons, J. W. Nie, S., *In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots*. *Current Opinion in Biotechnology*, 2005. **16**(1): p. 63-72.
42. Φίλλιπος, Κ., *Οπτικές ιδιότητες κβαντικών τελειών*. *Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Φυσικής*, 2012.
43. Hossen, S., et al., *Smart nanocarrier-based drug delivery systems for cancer therapy and toxicity studies: A review*. *Journal of Advanced Research*, 2019. **15**: p. 1-18.
44. Li, K.P., Sunil Guccione, Samira D Bednarski, Mark, *Molecular Imaging Applications in Nanomedicine*. *Biomedical Microdevices*. Vol. 6. 2004: Kluwer Academic Publisher.
45. Kim, B.Y.J., W. Oreopoulos, J. Yip, C. M. Rutka, J. T. Chan, W. C., *Biodegradable quantum dot nanocomposites enable live cell labeling and imaging of cytoplasmic targets*. *Nano Letters*, 2008. **8**(11): p. 3887-92.

46. Sun, T.Z., Y. S. Pang, B. Hyun, D. C. Yang, M. Xia, Y., Engineered nanoparticles for drug delivery in cancer therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, 2014. **53**(46): p. 2-47.
47. Liu, J.H., Y. Kumar, A. Tan, A. Jin, S. Mozhi, A. Liang, X. J., pH-sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy. *Elsevier*, 2014. **32**(4): p. 693-710.
48. Ευσταθία, Β., Υβριδικά μαγνητικά νανοσωματίδια για τη στοχευμένη χορήγηση σισπλατίνης σε καρκινικούς όγκους. Πτυχιακή Εργασία, 2013
49. Bertrand, N.W., J. Xu, X. Kamaly, N. Farokhzad, O. C., *Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology*. Elsevier, 2014. **66**: p. 2-25.
50. Matsumura, Y.M., H., A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *American Association for Cancer Research*, 1986. **46**(12 Pt 1): p. 6387-92.
51. Schleich, N., et al., Comparison of active, passive and magnetic targeting to tumors of multifunctional paclitaxel/SPIO-loaded nanoparticles for tumor imaging and therapy. *J Control Release*, 2014. **194**: p. 82-91.
52. Danhier, F., O. Feron, and V. Preat, To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J Control Release*, 2010. **148**(2): p. 135-46.
53. Χρήστος, Τ., Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Τροποποιημένων Πολυλειτουργικών Νανοπεριεκτών. Διδακτορική διατριβή, 2013.
54. Αποστολοπούλου Β., Κ., Προσθήκη Νανοσκόνης Αιματίτη σε Πολυμερικές μήτρες Πολυστυρενίου και Πολυ(Μεθακρυλικού μεθυλίου) και Χαρακτηρισμός τους. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Τομέας Υλικών, 2010-2011.
55. Βαλαβανίδης, Α.Π., Φασματοσκοπία Οργανικών ενώσεων **3**: p. 33-44.
56. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical\\_Chemistry/Book3A\\_Physical\\_Methodsin\\_Chemistry\\_and\\_Nano\\_Science\\_\(Barron\)/083A\\_Structure\\_at\\_the\\_Nano\\_Scale/8.053A\\_Using\\_UV-Vis\\_for\\_the\\_detection\\_and\\_characterization\\_of\\_silicon\\_quantum\\_dots](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book3A_Physical_Methodsin_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/083A_Structure_at_the_Nano_Scale/8.053A_Using_UV-Vis_for_the_detection_and_characterization_of_silicon_quantum_dots), Using UV-Vis for the detection and characterization of silicon quantum dots. 2019.
57. Ευαγγελία, Μ., Σύνθεση και Χαρακτηρισμός Χαμηλοδιάστατων Ημιαγωγών Αλογονιδίων του Μολύβδου και Χαλκογενιδίων. Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Επιστήμης των Υλικών, 2010.
58. Chatterjee, A.K., 8 - X-Ray Diffraction, in *Handbook of Analytical Techniques in Concrete Science and Technology*, V.S. Ramachandran



- and J.J. Beaudoin, Editors. 2001, William Andrew Publishing: Norwich, NY. p. 275-332.
59. Δανάη, Π., Σύνθεση, Χαρακτηρισμός και Βιολογική Αξιολόγηση τροποποιημένων και μη Μαγνητικών Νανοσωματιδίων Οξειδίου του Σιδήρου για Βιολογικές Εφαρμογές. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, 2018.
  60. Inkson, B.J., 2 - Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization, in *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods*, G. Hübschen, et al., Editors. 2016, Woodhead Publishing. p. 17-43.
  61. Kara M. de la Harpe, K.M.K., P. P. D. Choonara, Y. E., *The Hemocompatibility of Nanoparticles: A Review of Cell-Nanoparticle Interactions and Hemostasis*. *Cells*, 2019. **8**(10).
  62. Dobrovolskaia, M.A., et al., *Method for analysis of nanoparticle hemolytic properties in vitro*. *Nano letters*, 2008. **8**(8): p. 2180-2187.
  63. Mosmann, T., *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. *J Immunol Methods*, 1983. **65**(1-2): p. 55-63.
  64. Nair, A., et al., *Investigations on the Structural Damage in Human Erythrocytes Exposed to Silver, Gold, and Platinum Nanoparticles*. *Advanced Functional Materials*, 2010. **20**: p. 1233-1242.
  65. Tselepi-Kalouli, E.K., N., *The interaction of [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>Cl]<sup>2+</sup> and [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> ions with DNA*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1989. **37**(4): p. 271-282.
  66. Fu, Y.-S., et al., *Stable Aqueous Dispersion of ZnO Quantum Dots with Strong Blue Emission via Simple Solution Route*. *Journal of the American Chemical Society*, 2007. **129**(51): p. 16029-16033.
  67. Ghorbani, H., et al., *Synthesis of ZnO Nanoparticles by Precipitation Method*. *Oriental Journal of Chemistry*, 2015. **31**(2): p. 1219-1221.
  68. Senthilkumar, K., et al., *Synthesis and Characterization Studies of ZnSe Quantum Dots*. *Journal of Materials Science Materials in Electronics*, 2012. **23**: p. 2048–2052.
  69. Li, H., W.Y. Shih, and W.-H. Shih, *Non-heavy-metal ZnS quantum dots with bright blue photoluminescence by a one-step aqueous synthesis*. *Nanotechnology*, 2007. **18**(20): p. 205604.
  70. Bwatanglang, I.B., et al., *Folic acid targeted Mn:ZnS quantum dots for theranostic applications of cancer cell imaging and therapy*. *International journal of nanomedicine*, 2016. **11**: p. 413-428.
  71. Ghorbani, H., et al., *Synthesis of ZnO Nanoparticles by Precipitation Method*. *Oriental Journal of Chemistry*, 2015. **31**: p. 1219-1221.
  72. Bilalis Panayiotis, E.E., Chatzipavlidis Alexandros, Boukos Nikos, Kordas George, *Multi-responsive polymeric microcontainers for potential*

- biomedical applications: Synthesis and functionality evaluation. Society of Chemical Industry, 2012. 61: p. 888-894.*
73. Yang, C.W., J. Ge, Weikun Guo, L. Yang, S. Shen, D., *Enhanced ultraviolet emission and optical properties in polyvinyl pyrrolidone surface modified ZnO quantum dots. Journal of Applied Physics, 2001. 90: p. 4489-4493.*
74. Sun, D., H.-J. Sue, and N. Miyatake, *Optical Properties of ZnO Quantum Dots in Epoxy with Controlled Dispersion. The Journal of Physical Chemistry C, 2008. 112(41): p. 16002-16010.*
75. Ανδρέας, Α., *Μελέτη φυτικών ιστών με μεθόδους σύγχρονης Μικροσκοπίας. Πτυχιακή Εργασία, 2007.*
76. Shah, M., *Growth of Zinc Oxide Nanoparticles by the Reaction of Zinc with Ethanol. Advanced Materials Research, 2009. 67: p. 215-219.*