

## Tổng hợp vật liệu nano NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> nhằm ứng dụng trong đánh dấu tế bào ung thư phổi Lu-1

Trần Thu Hương<sup>1,2\*</sup>, Hà Thị Phượng<sup>3</sup>, Lê Thị Vinh<sup>4</sup>, Phan Diệu Hằng<sup>3</sup>, Hoàng Thị Khuyên<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội 10000, Việt Nam

<sup>2</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt Cầu Giấy, Hà Nội 10000, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, Đống Đa, Hà Nội 10000, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Đại học Mở - Địa chất, 18 Phố Viên, Nam Từ Liêm, Hà Nội 10000, Việt Nam

Đền Tòa soạn 30-6-2020; Chấp nhận đăng 15-10-2020

### Abstract

Up conversion nanophosphors which have advantages of high stability, strong luminescence, non-complex fabrication, easy surface functionalization, friendly to environment and human body, have been very promising materials in various fields of health-care application, especially in luminescent labelling. In this paper, we present some achievements on synthesis and testing of upconversion nanopcomplex for biomedical applications. The NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> nanophosphors were synthesized by wet - chemical method, producing particles with size scale from tens to hundreds nano-metres. Structure, morphology and luminescent properties of these materials were investigated by X-ray diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM) and Photoluminescence Spectroscopy (PL). The synthesized NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> nanophosphors have been functionalized and conjugated by attaching the biological agents. The bio-nanocomplex NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup>@silica-NH-AF have been tested for detection of lung cancer cells (Lu-1). These results show high potential application of the up conversion nanophosphors for the development of fluorescent labelling and the imaging tool in biomedicine.

**Keywords.** NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup>, up conversion, rare-earth, nanocomplex, cancer cells.

### 1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược đã trở thành một trong những đối tượng nghiên cứu mới và có những bước chuyển quan trọng, tạo ra sức hút mới đối với các nhà khoa học trong nhiều lĩnh vực như: chăm sóc sức khỏe, an ninh, năng lượng...<sup>[1-5]</sup> Với ứng dụng chăm sóc sức khỏe, các vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược có hai ưu thế cơ bản so với vật liệu phát quang thông thường. Thứ nhất là, việc dùng nguồn kích thích hồng ngoại giúp giảm tối đa khả năng tự phát quang của đối tượng và nâng cao độ tương phản của các vi hình ảnh. Thứ hai là ánh sáng hồng ngoại thân thiện với cơ thể người, không gây biến đổi tế bào, có thể xuyên được vài milimet vào mô người nên sẽ tác dụng sâu hơn vào vùng tổn thương. Có rất nhiều công trình công bố về các loại vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược, trong đó vật liệu nền oxit, florua của yttri và gadoli pha tạp ion đất hiếm

Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup>, Tm<sup>3+</sup>, Ho<sup>3+</sup> là nổi bật hơn cả.<sup>[6-8]</sup> Các nghiên cứu cho thấy, mạng nền NaYF<sub>4</sub> kích thước nanomet sẽ tạo ra hiệu ứng phát quang chuyển đổi ngược với hiệu suất phát quang cao, bền trong các điều kiện khác nhau. Vật liệu này hứa hẹn nhiều tiềm năng ứng dụng trong hiển thị, an ninh, quang điện tử<sup>[9-11]</sup> và đặc biệt trong y sinh như nhận dạng hình ảnh (bioimaging), cảm biến sinh học (biosensing), trị liệu ung thư (cancer therapy).<sup>[12-14]</sup> Các ứng dụng đánh dấu nhận dạng sinh học *in vitro* và *in vivo* của vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược pha tạp ion đất hiếm có độ tương phản cao. Vì thế vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược có tiềm năng lớn trong thiết kế, chế tạo các phức hợp nano sinh học có thể nhận dạng được chính xác một số loại tế bào ung thư.<sup>[14,15]</sup> Trong nước, một số nhóm các nhà khoa học cũng đã tập trung nghiên cứu hệ vật liệu phát quang chuyển đổi ngược chứa nguyên tố Yb, Er, Tm... ở các hình thái học khác nhau và đã có một số kết quả ban đầu.<sup>[16-18]</sup> Tuy

nhien, hiện nay các ứng dụng vật liệu này trong y sinh vẫn chưa được tập trung nghiên cứu nhiều. Vì vậy, trong bài báo này chúng tôi trình bày một số kết quả ban đầu về nghiên cứu tổng hợp phức hợp nano  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  với lớp bọc silica được gắn với axit folic (AF) ứng dụng nhận dạng tế bào ung thư phổi Lu-1. Vật liệu tổng hợp được có dạng hạt khoảng 50 đến 150 nm. Cấu trúc, hình thái học của các vật liệu được xác định bằng các phương pháp phân tích nhiễu xạ tia X, FTIR, FESEM và đặc biệt là phổ huỳnh quang. Các kết quả sử dụng phức hợp nano y sinh vào quy trình ủ sinh học bắt cặp với tế bào đích nhằm đánh dấu tế bào ung thư phổi Lu-1 *in vitro* bước đầu cho thấy vật liệu  $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$  với lớp bọc silica được gắn với axit folic phát quang mạnh có triển vọng đối với liệu pháp chẩn đoán và điều trị ung thư.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Hóa chất

Vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  và phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  được tổng hợp bằng phương pháp hóa ướt. Để tổng hợp các vật liệu nano này, chúng tôi sử dụng các hóa chất tinh khiết:  $\text{Y}(\text{NO}_3)_3.6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma, 99,9 %);  $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3.5\text{H}_2\text{O}$  (Sigma, 99,9 %);  $\text{Er}(\text{NO}_3)_3.5\text{H}_2\text{O}$  (Sigma, 99,9 %);  $\text{NH}_4\text{F}$  (Merck, 99,9 %); PEG 20000; TEOS (Tetraethyl orthosilicate  $\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$ ), (Merck, 99 %); axit folic ( $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$ ); DCC (N, N'-Dicyclohexylcarbodiimide, (Adrich 99 %); NHS (N-Hydroxysuccinimide;  $\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_3$ ), Adrich, > 98 %; DMSO (dimethyl sulfoxide,  $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ ), Adrich, 99,9 %; etanol (Merck, 96 %); nước khử ion.

### 2.2. Phương pháp chuẩn bị mẫu

#### 2.2.1. Tổng hợp vật liệu $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$

Quy trình tổng hợp vật liệu  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  được mô tả như sau: Trộn 31,6 ml  $\text{Y}(\text{NO}_3)_3.6\text{H}_2\text{O}$  0,025 M với 20,5 ml  $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3.5\text{H}_2\text{O}$  0,01 M và 1,0 ml  $\text{Er}(\text{NO}_3)_3.5\text{H}_2\text{O}$  0,005 M rồi lắc đều thu được dung dịch 1. Cho từ từ dung dịch NaOH vào bình cầu, thêm tiếp etanol; etylen glycol vào và khuấy từ trong 15 phút được dung dịch 2. Nhỏ từ từ dung dịch 1 vào dung dịch 2, khuấy từ trong 120 phút thu được dung dịch 3. Tiếp tục nhỏ dung dịch NaF 0,25 M vào dung dịch 3, khuấy từ trong 120 phút rồi cho vào bình autoclave ủ nhiệt tại 190 °C trong 24 giờ. Lấy sản phẩm đem ly tâm, lọc rửa nhiều lần bằng nước khử ion và sấy ở 80 °C trong 10 giờ thu được bột  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ .

#### 2.2.2. Tạo phức hợp nano y sinh $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$

Cho 1,15 ml TEOS; 2,1ml IPA; 0,5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ; 0,6 ml axit axetic vào bình cầu 2 cổ và khuấy trong 60 phút được dung dịch A. Cho 200 mg bột  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  vào dung dịch A và tiếp tục khuấy từ trong 24 giờ. Dung dịch thu được đem đi ly tâm, rửa 3 lần bằng etanol 50 % thu được sản phẩm B. Tiếp theo cho B vào 5 ml etanol và 0,5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , lắc đều trong 20 phút, rồi thêm tiếp 0,58 ml APTMS và khuấy từ trong 12 giờ. Hỗn hợp dung dịch thu được sau khi ly tâm, rửa sạch thu được sản phẩm C. Sau đó, sản phẩm C được đem gắn với axit folic.<sup>[19,20]</sup>

Axit folic (AF) có công thức phân tử  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$ , chứa cả nhóm axit và nhóm amin. Như đã biết, AF hoặc các nhóm folat là trung tâm thụ cảm của nhiều loại tế bào ung thư như: ung thư cổ tử cung, ung thư vú, ung thư phổi, gan, thận... Vì tế bào ung thư thể hiện khả năng thụ cảm cao hơn nhiều so với tế bào lành nên có thể sử dụng phân tử AF (hoặc nhóm folat) để tạo các phức hợp dùng để nhận dạng khá hiệu quả tế bào ung thư.

Trong quá trình liên hợp hóa đã sử dụng các chất trung gian NHS (N-Hydroxysuccinimide) và DCC (N, N'-Dicyclohexylcarbodiimide). Đây là hai tác nhân chéo, một tác nhân mạnh cho axit, một tác nhân mạnh cho amin nên nó phù hợp với tính chất của nhiều phân tử sinh học (protein, DNA,...). Sử dụng tác nhân kép này có thể gắn kết rất hiệu quả với các biomarker khác nhau, đặc biệt là axit folic. Quá trình gắn kết với AF để tạo phức hợp  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  được mô tả như sau: Trộn 0,5mg AF trong 10 ml dimethyl sulfoxide (DMSO) rồi nhỏ từ từ 0,35 ml N, N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) và 0,41 ml N-Hydroxysuccinimide (NHS) vào và lắc trong 30 phút. Thêm tiếp vào dung dịch này 0,5 mg  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH}_2$  (đã được phân tán trong 10ml  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  và  $\text{H}_2\text{O}$ ) rồi lắc đều trong 30 phút. Hỗn hợp dung dịch thu được làm sạch bằng dung dịch đệm PBS, ly tâm, thu được phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$ . Phức hợp này được thử nghiệm gắn kết với tế bào Lu-1.

#### 2.2.3. Thử nghiệm ủ phức hợp nano y sinh $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$ với tế bào ung thư phổi Lu-1

Tế bào ung thư phổi Lu-1 được đem nuôi cấy ở 37 °C trong môi trường ẩm MEME với 10 % FBS, 1 % antibiotic - antimycotic, 50 µg/ml gentamicin và 5 %  $\text{CO}_2$  trong 2-3 ngày. Chia các tế bào Lu-1 vào đĩa 24 giếng cùng với mật độ  $5.10^4$  tế bào/ml và tiếp tục ủ trong 24 giờ. Thêm tiếp PEG 1500 và phức hợp nano  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  (nồng độ 20

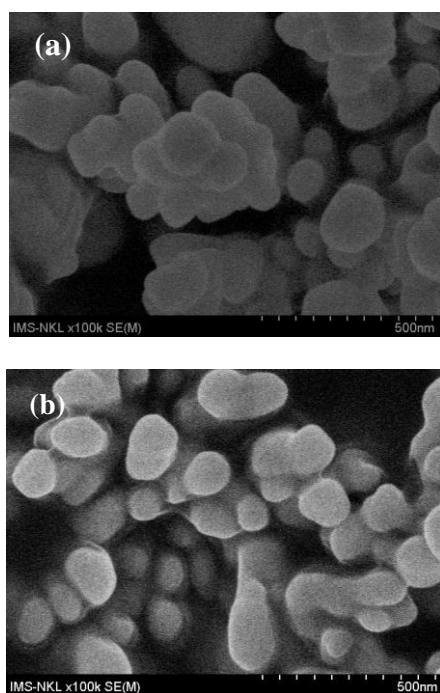
$\mu\text{g/ml}$ ) vào giếng nuôi tế bào trong 3 giờ. Ly tâm các ống để tách các tế bào khỏi môi trường nuôi cấy và rửa bằng PBS vô trùng trong  $\text{pH} = 7$  nhằm loại bỏ các phức hợp không bắt cặp với tế bào và các sản phẩm phụ khác.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

Hình thái học của vật liệu được quan sát trên kính hiển vi điện tử phát trường (FESEM, Hitachi - field emission scanning electron microscopy). Cấu trúc của vật liệu được xác định trên hệ đo nhiễu xạ tia X (Siemens D5000 với  $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$  trong khoảng  $10^\circ \leq \theta \leq 80^\circ$ ) thuộc Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ hồng ngoại được khảo sát trên máy đo quang phổ hồng ngoại Fourier NEXUS 670 (FT-IR). Phổ huỳnh quang của vật liệu được đo trên hệ đo phổ kế phân giải cao -Model: IHR 550 với bước sóng kích thích 980 nm thuộc Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Hình thái học của vật liệu



Hình 1: Ảnh FESEM của mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  (a) và  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@ \text{silica-NH-AF}$  (b) ở  $190^\circ \text{C}$  trong 24 giờ

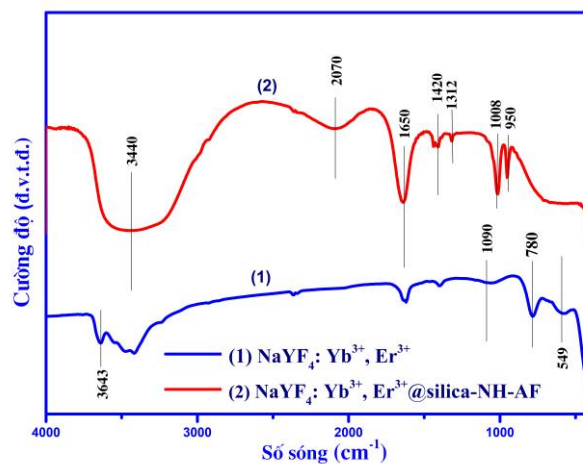
Hình thái học của vật liệu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  và  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@ \text{silica-NH-AF}$  sau khi đã bọc, chức năng hóa, liên hợp hóa được quan sát trên kính hiển vi điện tử phát trường và được thể hiện trên

hình 1. Kết quả ảnh FESEM cho thấy, với mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  (hình 1a), vật liệu có hình dạng hạt với đường kính  $100 \text{ nm} \div 120 \text{ nm}$  và không bị kết dính. Sau khi đã chức năng hóa, liên hợp hóa với nhóm  $-\text{NH}_2$  và AF, đường kính của vật liệu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@ \text{silica-NH-AF}$  có tăng nhẹ so với khi chưa gắn kết, lên khoảng  $100 \div 150 \text{ nm}$  (hình 1b). Như vậy các vật liệu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  sau khi bọc bằng silica và được gắn AF không bị thay đổi về hình thái học và có kích thước tăng nhẹ so với vật liệu gốc  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ .

### 3.2. Cấu trúc của vật liệu

#### 3.2.1. Phân tích phổ hồng ngoại (FTIR)

Quan sát phổ hồng ngoại của các mẫu trên Hình 2 xuất hiện một dải rộng và mạnh trong vùng từ  $3600 \div 3300 \text{ cm}^{-1}$  tương ứng với dao động của liên kết O-H do sự hấp thụ của  $\text{H}_2\text{O}$  và etylen glycol (đường 1 và 2). Các nguyên tử đất hiếm liên kết với vật liệu nền  $\text{NaYF}_4$  thể hiện qua các dao động ở các tần số thấp tương ứng với các số sóng  $780 \text{ cm}^{-1}$  và  $549 \text{ cm}^{-1}$ .



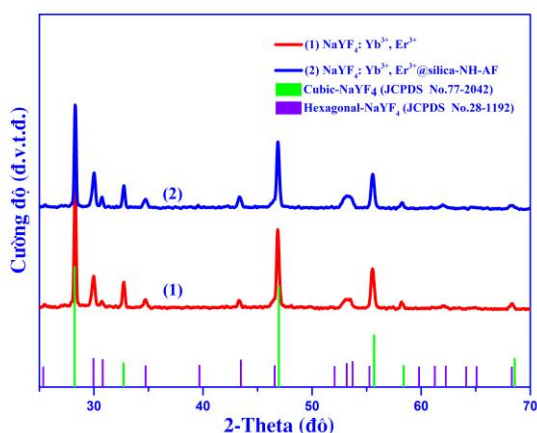
Hình 2: Phổ hồng ngoại của mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  (1) và mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@ \text{silica-NH-AF}$  (2).

Phổ hồng ngoại của mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@ \text{silica-NH-AF}$  (đường 2) có đỉnh tại số sóng  $1090 \text{ cm}^{-1}$  gây ra bởi dao động của liên kết  $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$  cho thấy lớp vỏ silica đã bọc thành công vào vật liệu. Tại số sóng  $1650 \text{ cm}^{-1}$  tương đương với các liên kết  $-\text{C}=\text{O}-\text{NH}$  quan sát được đã chứng minh sự hiện diện của APTMS trên  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@ \text{silica-NH}_2$ . Đặc biệt, đỉnh hấp thụ mạnh của liên kết  $\text{C}=\text{O}$  trong nhóm cacboxylat từ các phân tử AF ở  $1420 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1312 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1008 \text{ cm}^{-1}$  và  $950 \text{ cm}^{-1}$  sau khi đã chức năng hóa cho thấy các đỉnh hấp thụ mạnh tương ứng với các dao động biến dạng của liên kết  $\text{C}=\text{O}$ . Nói cách khác, liên kết hóa học giữa các phân

từ AF và các chất vô cơ đã được hình thành. Những kết quả này chứng tỏ rằng các phối tử AF đã được bắt cặp thành công vào vật liệu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH}_2$ .

### 3.2.2. Phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X

Cấu trúc của vật liệu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  và  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{Silica-NH-AF}$  (2) được khảo sát thông qua phép phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X và được thể hiện trên hình 3. Kết quả phân tích giản đồ nhiễu xạ tia X cho thấy các mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  (đường 1),  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  (đường 2) có các đỉnh nhiễu xạ tại các góc  $2\theta$ : 28,3; 32,8; 46,9; 55,7; 58,3 $^\circ$  tương đương với cấu trúc pha cubic  $\alpha$ - $\text{NaYF}_4$  phù hợp với thẻ chuẩn JCPDS số 01-077-2042. Các đỉnh nhiễu xạ tại các góc  $2\theta$ : 25,4; 29,5; 30,8; 34,7; 41,4; 43,5; 53,2; 68,5 $^\circ$  tương đương với cấu trúc pha Hexagonal  $\text{NaYF}_4$  phù hợp với thẻ chuẩn JCPDS số 00-028-1192. Như vậy, vật liệu tổng hợp được có cấu trúc hỗn hợp hai pha  $\alpha$ - $\text{NaYF}_4$  và  $\beta$ - $\text{NaYF}_4$ . Điều này chứng tỏ sự có mặt của lớp bọc và chức năng hóa trong mẫu không làm thay đổi cấu trúc pha của vật liệu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  đã tổng hợp được.



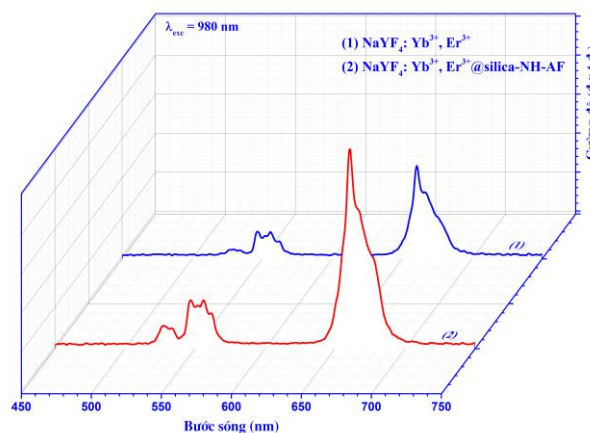
Hình 3: Giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  (1) và mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  (2)

### 3.3. Phổ huỳnh quang

Kết quả phân tích phổ huỳnh quang chuyển đổi ngược của mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  và  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  sau khi đã chức năng hóa bằng nhóm amin của hợp chất APTMS và gắn kết với axit folic AF tại bước sóng kích thích 980 nm được trình bày trên hình 4. Quan sát phổ huỳnh quang thấy, các mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  và  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  đều phát xạ màu xanh tại các bước sóng (510÷570 nm) và màu đỏ tại các bước sóng (630÷700 nm) ứng với các chuyển dời đặc

trung  ${}^2\text{H}_{11/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$ ;  ${}^4\text{S}_{3/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  và  ${}^4\text{F}_{9/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  của ion  $\text{Er}^{3+}$ . Trong vật liệu, axit folic có vai trò là tâm thụ cảm trên bề mặt của nhiều loại tế bào ung thư nên chúng có triển vọng làm tác nhân đánh dấu nhận dạng khá hiệu quả.

Chúng tôi sử dụng phức hợp nano  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  thử nghiệm ủ với tế bào ung thư phổi Lu-1 trong 24 giờ theo quy trình tại Phòng thí nghiệm của Viện công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Kết quả thử nghiệm được quan sát trên kính hiển vi huỳnh quang soi ngược Zeiss axio vert A1 và được thể hiện trên Hình 5. Phần bên trên là hình ảnh các tế bào quan sát được khi chiếu ánh sáng thường, phần ở giữa là hình ảnh khi chiếu ánh sáng huỳnh quang và phần bên dưới là hình ảnh khi hợp nhất hai phần trên. Kết quả thu được trên hình 5 cho thấy, dưới ánh sáng thường đều chỉ quan sát được hình ảnh tế bào Lu-1, nhưng dưới ánh sáng huỳnh quang, với tế bào Lu-1 đối chứng không thấy sự phát quang. Đối với tế bào Lu-1 ủ phức hợp  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  trong 3 giờ, chúng tôi đã quan sát được những chấm phát sáng rõ trên bề mặt tế bào. Điều này thu được từ việc hợp nhất các kết quả khi chiếu ánh sáng thường và ánh sáng huỳnh quang.



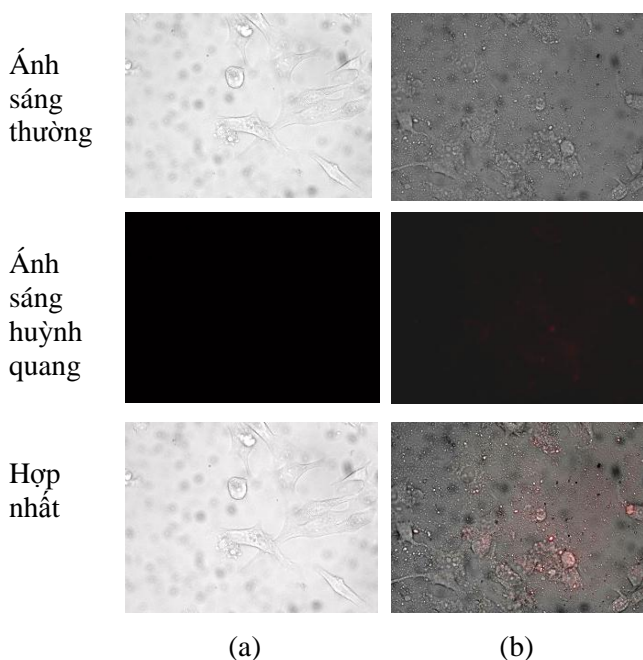
Hình 4: Phổ huỳnh quang chuyển đổi ngược của mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  (1) và mẫu  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  (2) tại bước sóng 980 nm

Như vậy, qua mẫu thử nghiệm ban đầu cho thấy, các nhóm folat đã được gắn vào các tế bào ung thư phổi Lu-1 hay nói cách khác, phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  đã bắt cặp vào bề mặt của tế bào ung thư phổi Lu-1. Vị trí bắt cặp của phức hợp nano này với tế bào ung thư đã được quan sát bằng kính hiển vi soi ngược Zeiss axio vert A1. Từ kết quả thu được cho thấy, phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}@\text{silica-NH-AF}$  có thể ứng dụng để phát hiện vi hình ảnh tế bào ung thư phổi Lu-1 *in vitro* thông qua kỹ thuật huỳnh quang.



## 4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp thành công phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ @silica-NH-AF (sử dụng tác nhân APTMS liên hợp với axit folic). Vật liệu nano có dạng hạt với đường kính từ 50÷150 nm. Cấu trúc, hình thái học của vật liệu nano được xác định bằng các phương pháp nhiễu xạ tia X, FESEM, FTIR và đặc biệt là phổ huỳnh quang. Phức hợp phát quang chuyển đổi ngược tốt và ổn định, tương thích sinh học và là công cụ thích hợp để đánh dấu huỳnh quang.



Hình 5: Hình ảnh tế bào Lu-1 đối chứng (a) và tế bào Lu-1 ủ với phức hợp nano  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ @silica-NH-AF (b) quan sát dưới kính hiển vi điện tử huỳnh quang soi ngược

Đã thử nghiệm thành công khảo sát khả năng bắt cặp phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ @silica-NH-AF để đánh dấu nhận dạng tế bào ung thư phổi Lu-1 bằng kính hiển vi soi ngược thông qua kỹ thuật huỳnh quang. Kết quả cho thấy, phức hợp  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ @silica-NH-AF đã bắt cặp với tế bào Lu-1 trong điều kiện thử nghiệm *in vitro*.

Kết quả thử nghiệm ban đầu cho thấy phức hợp nano y sinh  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ @silica-NH-AF là tiền đề cho việc mở ra khả năng ứng dụng vật liệu nano phát quang chuyển đổi ngược  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  làm công cụ đánh dấu và phát hiện một số tế bào ung thư *in vitro* thông qua kỹ thuật huỳnh quang.

**Lời cảm ơn.** Công trình này được hỗ trợ kinh phí nghiên cứu từ Đề tài mã số 103.03-2017.66 thuộc Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED). Ngoài ra, các tác giả xin chân thành

cảm ơn sự hỗ trợ của Phòng thí nghiệm Quang Hoá Điện tử, Phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia về Vật liệu và linh kiện điện tử, Viện Khoa học vật liệu đã tạo điều kiện tốt để thực hiện công trình này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. W. Zheng, P. Huang, D. Tu, E. Ma, H. Zhuab, and X. Chen. Lanthanide-doped upconversion nanobio-probes: electronic structures, optical properties, and biodetection, *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 1379-1415.
2. P. Du, L. Luo, and J. S. Yu. Facile synthesis of  $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ -codoped  $\text{NaYF}_4$  nanoparticles: a promising multifunctional upconverting luminescent material for versatile applications, *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 94539-94546.
3. J. Zhou, Q. Liu, W. Feng, Y. Sun, and F. Li. Upconversion luminescent materials: Advances and applications, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 395-465.
4. D. Vennerberg and Z. Lin. Upconversion Nanocrystals: Synthesis, Properties, Assembly and Applications, *Sci. Advan. Mater.*, **2011**, *3*, 26-40.
5. A.B. Chinen, C.M. Guan, J.R. Ferrer, S.N. Barnaby, T.J. Merkel, and C.A. Mirkin. Nanoparticle Probes for the Detection of Cancer Biomarkers, Cells, and Tissues by Fluorescence, *Chem Rev.*, **2015**, *115*(19), 10530-10574.
6. G. Chen, H. Ågren, T.Y. Ohulchanskyya, and P.N. Prasad. Light upconverting core-shell nanostructures: nanophotonic control for emerging applications, *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 1680-1713.
7. J. H. Lin, H. Y. Liou, C. D. Wang, C. Y. Tseng, C. T. Lee, C. C. Ting, H. C. Kan, and C. C. Hsu. Giant Enhancement of Upconversion Fluorescence of  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  Nanocrystals with Resonant Waveguide Grating Substrate, *ACS Photonics*, **2015**, *2*(4), 530-536.
8. N. Niu, F. He, S. Gai, C. Li, X. Zhang, S. Huang, and P. Yang. Rapid microwave reflux process for the synthesis of pure hexagonal  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}^{3+}, \text{Ln}^{3+}, \text{Bi}^{3+}$  ( $\text{Ln}^{3+}$  1/4  $\text{Er}^{3+}, \text{Tm}^{3+}, \text{Ho}^{3+}$ ) and its enhanced UC luminescence, *J. Mater. Chem.*, **2012**, *22*, 21613-21623.
9. Y. Chen, W. He, H. Wang, X. Hao, Y. Jiao, J. Lu, and S. Yang. Effects of the reaction time and size on the up conversion luminescence of  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}$  (20%),  $\text{Er}$  (1%) microcrystals, *J. Luminescence*, **2012**, *132*, 2404-2408.
10. J. Zhang, C. Mi, H. Wu, H. Huang, C. Mao, and S. Xu. Synthesis of  $\text{NaYF}_4: \text{Yb}/\text{Er}/\text{Gd}$  up-conversion luminescent nanoparticles and luminescence resonance energy transfer-based protein detection, *Analytical Biochemistry*, **2012**, *421*, 673-679.
11. Enhancing solar cell efficiency: The search for luminescent materials as spectral converters, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 173-201.
12. M. V. Da Costa, S. Doughan, Y. Han, and U.J. Krull. Lanthanide upconversion nanoparticles and applications in bioassays and bioimaging: A review,

- Anal. Chim. Acta*, **2014**, 832,1-33.
13. B. Zhou, B. Shi, D. Jin, and X. Liu. Controlling upconversion nanocrystals for emerging applications, *Nat. Nanotechnol.*, **2015**, 10, 924-936.
  14. M. Lin, Y. Zhao, S. Wang, M. Liu, Z. Duan, Y. Chen, F. Li, F. Xu, and T. Lu. Recent advances in synthesis and surface modification of lanthanide-doped upconversion nanoparticles for biomedical applications, *Biotechnol. Adv.*, **2012**, 30,1551-1561.
  15. G. Chen, H. Qiu, P.N. Prasad, and X. Chen. Upconversion nanoparticles: Design, nanochemistry, and applications in theranostics, *Chem. Rev.*, **2014**, 114, 5161-5214.
  16. L. T. K. Giang, T. N. Dat, T. T. Huong, T. K. Anh, N. T. Binh, and L. Q. Minh. Fabrication and characterization of the colloidal upconversion nanoluminophores with core shell structures based on the NaYF<sub>4</sub>: Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup>, *Adv. Mater. Sci. Nanotechnology*, **2012**, 132-135.
  17. N. Vu, L. Q. Duong, N. D. Van, and T. K. Anh. Polypol-mediated synthesis and characterizations of NaYF<sub>4</sub>: Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup> nanocrystal up conversion phosphors, *Proceedings of IWNA*, **2011**, 184, 804-806.
  18. T. K. Anh, P. Benalloul, C. Barthou, L. T. K. Giang, N. Vu, and L. Q. Minh. Luminescence, Energy Transfer and Up - Conversion Mechanisms of Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanomaterials Doped with Eu<sup>3+</sup>, Tb<sup>3+</sup>, Tm<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> and Yb<sup>3+</sup> ions, *J. Nanomaterials*, **2007**, 1-10.
  19. Ha Thi Phuong, Tran Thu Huong, Hoang Thi Khuyen, Le Thi Vinh, Do Thi Thao, Nguyen Thanh Huong, Pham Thi Lien and Le Quoc Minh. Synthesis and structural characterization of NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup>@silica-N=Folic acide nanophosphors for bioimaging, *Journal of Rare earth*, **2019**, 37(11), 1183-1187.
  20. M. Huang, L. Wang, X. Zhang, J. Zhou, and L. Liu. Synthesis and Characterization of Folic Acid Labeled Upconversion Fluorescent Nanoprobes for in vitro Cancer Cells Targeted Imaging, *Brief reports*, **2017**, 15(5), 1-9.

**Liên hệ: Trần Thu Hương**

Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam  
 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội 10000, Việt Nam  
 E-mail: tthuongsims@gmail.com; Điện thoại: +84- 912212004.