



ЗАТВЕРДЖУЮ

професор з наукової роботи
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
проф. О.І. Жилінська

М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ

про виконану роботу у 2020 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок

«Плазмонні гібридні наносистеми «метал-полімер-флюорофор» з підсиленням оптичним
відгуком для фотоніки та біомедичних застосувань»

Назва конкурсу: «Підтримка досліджень провідних та молодих учених»

Реєстраційний номер Проєкту: 2020.02/0022

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок 2020.02/0022
«Плазмонні гібридні наносистеми «метал-полімер-флюорофор» з підсиленням оптичним відгуком
для фотоніки та біомедичних застосувань»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту

Початок – 29.10.2020 р. дата укладання Договору про виконання наукових досліджень і розробок;
Закінчення – 2022 рік.

Загальна вартість Проєкту, грн. 11 157 660

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 1 265 950

2-й рік 4 899 820

3-й рік 4 991 890

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 9 виконавців, з них:

доктори наук 2 ;

кандидати наук 3 ;

інші працівники 4 .

Виконавці:

Єщенко О.А., науковий керівник, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, професор, д.фіз.-мат.н., професор;

Куцевол Н.В., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, провідний науковий співробітник, заступник декана хімічного факультету з наукової роботи, д.х.н., с.н.с;

Крупка О.М., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, старший науковий співробітник, завідувач НДЛ, к.х.н., с.н.с;

Вірич П.А., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, науковий співробітник, к.біол.н.;

Харченко О.Г., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, науковий співробітник, к.х.н.;

Кузів (Гарагуц) Ю.І., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, аспірантка хімічного факультету;

Томчук А.В., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, аспірантка фізичного факультету;

Хорт П.С., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, студент магістратури фізичного факультету;

Надтока С.О., Київський національний університет імені Тараса Шевченка, студент магістратури біологічного факультету.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(І) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Грантоотримувач:

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

01033, м. Київ, вул. Володимирська, 60

р/р UA078201720313211010201014095

у ДКСУ в м. Києві

МФО 820172

ЄДРПОУ 02070944

(банківські реквізити)

Організація-субвиконавець до виконання проєкту не залучається.

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту

Створення нових гібридних наносистем «метал/полімер/флюорофор» та використання для них явища плазмонного підсилення та взаємно потенціюючого впливу окремих компонентів для забезпечення контрольованого інтенсивного оптичного відгуку таких систем в потрібному спектральному діапазоні для потенційного використання таких систем у фотоніці, біології та медицині.

4.2. Основні завдання Проєкту

1. Створити гібридні наносистеми «наночастинки (НЧ) Au(Ag)/полімер /флюорофор» з високою ефективністю фотолюмінесценції для використання в якості флюоресцентних міток. Виконати тестування таких міток в клітинах *in vitro* та *in vivo*.

2. Створити гібридні наносистеми «НЧ Au(Ag)/термочутливий полімер/флюорофор» як основи для флюоресцентної термометрії біологічних об'єктів. Виконати тестування таких систем *in vitro* та *in vivo*.

3. Створити гібридні наносистеми «НЧ Au(Ag) /термочутливий полімер/хлорин-еб» з плазмонним підсиленням ефективності збудження сенсibilізатора хлорину-еб для генерації синглетного кисню для фотодинамічної терапії. Виконати тестування таких систем *in vitro* та *in vivo*.

4. Створити гібридні наносистеми «НЧ Au(Ag)/термо-(фото-) чутливий полімер/флюорофор» як основи для використання як термо- та фоточутливих люмінесцентних оптичних перемикачів для потенційних застосувань у фотоніці та оптоелектроніці.

5. Створити плазмонні металеві (Ag, Al, Au) метаповерхні нанорезонаторного типу з екстремально сильним плазмонним підсиленням фотолюмінесценції та комбінаційного розсіяння світла для сенсорики біомолекул при кімнатних температурах.

6. Створити тонкоплівкові системи «композитна плівка полімер-флюорофор/плазмонна метаповерхня» для потенційного застосування як високоєфективних випромінюючих елементів тонкоплівкових світлодіодів.

4.3. Детальний зміст Проекту:

Сучасний стан проблеми

Популярним підходом для підсилення оптичного відгуку на зовнішні впливи є інтеграція плазмонних металевих НЧ та наноструктур на їх основі у склад багатофункціональних гібридних багатокомпонентних наносистем. Загально відомими є такі застосування плазмонних НЧ як концентраторів та підсилювачів локального електромагнітного (ЕМ) поля на нанорівні, сенсорні властивості та їхня здатність слугувати дуже ефективними джерелами теплової енергії на нанорівні. З іншого боку, зростаючий прогрес в розвитку нанотехнологій, а також біології та медицини свідчить про нагальну потребу в нових гібридних матеріалах, що базуються на біосумісних полімерах. Наприклад, термо- та фоточутливі полімери дозволяють створювати локально керовані актуатори на нанорівні, зокрема полімер полі(N-ізопропілакриламід) (PNIPAM) є потенційно багатообіцяючим як основа для виготовлення гібридних наносистем для біомедичних застосувань. Температура фазового переходу для лінійних молекул PNIPAM є близькою до температури шкіри людини, тому цей полімер може бути застосований для фотодинамічної терапії злоякісних новоутворень на шкірі. Зокрема, було продемонстровано, що полімер Dextran-graft-PNIPAM є ефективним наноносієм високотоксичних лікарських форм, які застосовуються у хіміотерапії. Поєднання біосумісних полімерів, зокрема їхніх термо- та фоточутливих видів, з НЧ металів та флюорофорами відкриває нові можливості для внутрішньоклітинної доставки як флюорофорів для діагностики-візуалізації клітин, так і ліків. Використання полімерів дозволяє фіксувати у гібридній наносистемі плазмонні елементи на флюорофори на певній відстані, зміна якої дозволяє змінювати величину плазмон-екситонної взаємодії в системі металева НЧ-флюорофор, що дозволяє змінювати інтенсивність плазмон-підсиленої люмінесценції, що важливо для застосувань у нанофотоніці. Особливу увагу привертають плазмонні метаповерхні нанорезонаторного типу – металеві поверхні, над якими на певній відстані (одиниці-десятки нанометрів) розташовані металеві наночастинки (так звані NPOМ-структури). У таких системах енергія ЕМ поля локалізована у надзвичайно малій просторовій області. Нанесення на такі плазмонні метаповерхні флюорофорів дозволяє отримати для них гігантське підсилення ФЛ (SEF) та КРС (SERS). Зокрема, нещодавно було показано можливість використання таких метаповерхонь для люмінесцентного детектування та візуалізації нуклеотидів при кімнатній температурі.

Новизна Проекту

Наукова новизна проекту полягає у використанні плазмонного підсилення та взаємно потенціуючого впливу окремих компонентів гібридних наносистем для забезпечення контрольованого інтенсивного оптичного відгуку таких систем в потрібному спектральному діапазоні. Основні нові ідеї, які використовуватимуться у проекті є наступними. 1. Використання полімерів як носіїв ліків та флюоресцентних міток на клітинному рівні. 2. Термочутливі полімери: внаслідок термоіндукованого фазового переходу у полімерній макромолекулі суттєво змінюється сила плазмон-екситонної взаємодії, а отже має змінюватись інтенсивність ФЛ флюорофора. Відповідно, з'являється можливість оптичної внутрішньоклітинної термометрії. 3. Термочутливі полімери: використання термоіндукованого фазового переходу має дозволити вивільняти ліки у хворих клітинах. Планується використати плазмонне підсилення ефективності збудження сенсibilізатора хлорину-еб (зокрема модифікованих форм) для генерації синглетного кисню для фотодинамічної терапії ракових клітин. 4. Використання колоїдних розчинів наносистем “металеві НЧ/термо-(фото-)чутливий полімер/флюорофор” в якості термо-(фото-) чутливих люмінесцентних оптичних перемикачів. Ця ідея базується на ефекті різкої зміни інтенсивності ФЛ цієї системи при термо- або лазерно-індукованому фазовому переході в молекулі полімера при незначній зміні температури. 5. Використання плазмонних метаповерхонь резонаторного типу “металева поверхня/металеві НЧ”, які забезпечують екстремально сильне підсилення ФЛ та КРС, що може бути використано для детектування без барвників при кімнатних температурах різноманітних біомолекул (нуклеотидів, ДНК, РНК, білків і т.д.). 6. Використання тонких

композитних плівок “полімер/флюорофор” на плазмонних метаповерхнях як високоефективних люмінесцентних елементів для тонкоплівкових світлодіодів.

Методологія дослідження

1. Для створення полімерних матриць (або наноплатформ для наносистем) буде синтезовано розгалужені кополімери з контрольованою інтрамолекулярною структурою. Характеризація полімерів буде проведена з використання рідинного хроматографа, оснащеного детектором пружного розсіювання світла та рефрактометром; ЯМР- спектрометрії та динамічного розсіювання світла (ДРС) при різних температурах. Синтезовані полімери буде використано як матриці для *in situ* синтезу НЧ металів (Ag, Au) та наночастинок CdS, Ag₂S тощо. Також ці полімери також будуть завантажені барвниками, напівпровідниковими НЧ, НЧ металів різної форми тощо. Також для приготування зразків буде використано термовакуумне напилення та лазерне структурування металевих поверхонь.

2. Аналіз морфології виготовлених зразків. Розміри гібридних макромолекул будуть визначатися за допомогою методу ДРС. Розміри, форма НЧ металів та напівпровідників, відстань між ними та їх просторове розташування в об'ємі полімерної макромолекули визначатимуться методами просвічуючої та скануючої електронної мікроскопії (ПЕМ та СЕМ), а також атомної силової мікроскопії (АСМ). Також методи СЕМ та АСМ використовуватимуться для дослідження структури поверхні лазерно-структурованих металевих поверхонь, а також розмірів та топології розташування НЧ, осаджених на ці поверхні.

3. Дослідження оптичних властивостей гібридних наносистем. Планується дослідження виготовлених наносистем з використанням кількох спектроскопічних методів, а саме: поглинання, дзеркального відбивання, дифузного відбивання, ДРС, ФЛ та КРС. Оптичні дослідження матимуть порівняльний характер. Спочатку будуть досліджуватись оптичні властивості окремих компонентів системи, а потім властивості багатокомпонентних систем. Значна частина дослідницьких зусиль буде присвячена дослідженню гібридних систем на основі термо- та фоточутливих полімерів, тому важливою частиною оптичних досліджень будуть експерименти при різних температурах та при лазерному опроміненні зразків в залежності від довжини хвилі та інтенсивності лазерного опромінення. Оскільки ключовим компонентом пропонованих гібридних наносистем є плазмонна компонента, то у зв'язку з цим плануються дослідження впливу типу металу (золото, срібло, алюміній), розмірів НЧ, їх форми та концентрації на спектральну локалізацію та інтенсивність плазмонного поля, а отже і на вираженість ефектів плазмонного підсилення оптичних властивостей гібридних систем.

4. Біологічні методи. Тестування біологічної активності синтезованих наносистем буде проводитись *in vitro* під дією світла різної довжини хвиль на диких штаммах мікроорганізмів *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*. Ефективність дії перевірятиметься на твердих поживних середовищах диско-дифузійним методом, що дозволяє оцінити можливість вивільнення та дифузії активних компонентів гібридних наносистем на плоскій поверхні та інтерпретувати результати при їх застосуванні для лікування захворювань шкіри. Метод суспензійних культур мікроорганізмів з флюоресцентним контрастуванням забезпечить кількісне порівняння бактерицидної активності окремих гібридних наносистем відносно диких штамів родів *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*. Наноконpozити оптимального складу буде протестовано *in vivo* та *in vitro* при опроміненні червоним лазером на клітинних лініях Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології та ім. Р.Є. Кавецького.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту

1. Шляхом вимірювання ступеня анізотропії фотолюмінесценції водного розчину гібридних наносистем D-g-PNIPAM / НЧ Au / КТ CdTe виявлено факт зв'язування квантових точок CdTe з гібридною полімерною макромолекулою.

2. У спектрі поглинання водного розчину наносистеми “D-g-PNIPAM / НЧ Au / КТ CdTe” виявлено прояви утворення плекситонів – квазічастинок, що виникають внаслідок змішування станів поверхневих плазмонів в НЧ Au та квантових точках (КТ) CdTe.
3. Виявлено факт плазмонного підсилення ФЛ КТ CdTe, що є наслідком проникнення квантових точок у гібридну полімерну макромолекулу з наступним зв'язуванням з нею. Показано, що максимальне підсилення спостерігається на енергіях фотонів, що відповідають плекситонним збудженням.
4. Дослідження поведінки фотолюмінесценції системи D-g-PNIPAM / НЧ Au / КТ CdTe при циклі нагрівання-охолодження дозволили виявити оборотне гасіння фотолюмінесценції. Гасіння було інтерпретовано як результат збільшення імовірності безвипромінювальної резонансної передачі енергії електронного збудження з квантових точок CdTe на наночастинки Au, що відбувається внаслідок суттєвого зменшення відстані між ними при різкому стисненні макромолекули полімера при температурно-індукованому фазового переході.
5. Спостережувані ефекти відкривають ряд можливостей для температурно-контрольованого регулювання інтенсивності фотолюмінесценції гібридної наносистеми D-g-PNIPAM / НЧ Au / КТ CdTe, що є важливим для її потенційних застосувань в фотоніці, біології та медицині, наприклад в якості термочутливих флуоресцентних оптичних перемикачів та міток або внутрішньоклітинних флуоресцентних термометрів.
6. Аналіз результатів щодо флуоресцентних характеристик похідних Хлорину дозволяє зробити ряд висновків про механізми утворення комплексів фотосенсибілізатор/D-g-PNIPAM. Згідно з отриманими даними, неполярні Хлорини ефективно зв'язуються з полімером у розчині при температурі вище критичної точки LCST. Молекули DME Себ локалізовані в глибині конденсованої полімерної матриці. Це призводить до обмеження рухливості зв'язаних молекул Хлорину, що супроводжується збільшенням ступеня поляризації флуоресценції.
7. Базуючись на тому, що спектральні характеристики флуоресценції Себ та його етерифікованого похідного залежать від полярності мікросередовища, можна зробити висновок, що положення максимуму спектру флуоресценції DME Себ в полімері при 672 нм відповідає значно нижчій полярності порівняно з водним середовищем. Зміна структури полімеру при охолодженні супроводжується зменшенням щільності наночастинок полімеру, що забезпечує більшу рухливість молекул DME Себ і, як результат, дозволяє їм дисоціювати у водному середовищі.
8. Беручи до уваги малі значення ступеня поляризації флуоресценції Себ в розчині полімеру, можна припустити, що відносно полярні молекули цього фотосенсибілізатора не здатні проникати в конденсований полімер і, як результат, розташовані у водному обсязі або на поверхні наночастинок D-g-PNIPAM незалежно від температури. Це підтверджується збігом положення максимумів спектрів флуоресценції Хлорину у водному золі та у розчині D-g-PNIPAM, незалежно від температури.
9. Результати нашого дослідження зі структурно подібними фотосенсибілізаторами Хлоринового типу чітко показують, що придатність до використання D-g-PNIPAM в якості розумної системи доставки ліків сильно залежить від властивостей інкапсульованого препарату.
10. Було показано, що фотодинамічна терапія з використанням низькоенергетичного світла з довжинами хвиль 390, 460 і 530 нм забезпечує інактивацію понад 50% КУО *S. aureus* у суспензійній культурі. Завдяки введенню в систему 0,0001% метиленового синього та опромінення її червоним світлом з довжиною хвилі 660 нм досягається висока бактерицидна здатність при значно нижчій сумарній дозі опромінення. Даний спосіб інактивації бактерій має мінімальний негативний ефект для живих тканин і сприяє швидкому загоєнню ран.
11. Виявлено здатність досліджених азополімерів до поверхневої рельєфної голографії, що вказує на те, що їх хімічна архітектура підходить для оптичного запису інформації. Роль полімеру з фотохромним фрагментом у цьому процесі досить суттєва, так як саме ізомеризація фрагмента при опроміненні є причиною утворення первинної дифракційної ґратки, а тому дизайн наносистем на їх основі відкриває нові можливості застосувань у оптоелектроніці.
12. На основі отриманих результатів було підготовлено 3 статті, які було надіслано до журналів рейтингу Q1–Q2: Journal of Physical Chemistry C, Plasmonics, Applied Nanoscience.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

1. Виявлений ефект оборотної сильної температурної залежності інтенсивності фотолюмінесценції водного розчину гібридної наносистеми D-g-PNIPAM / НЧ Au / КТ CdTe відкривають ряд можливостей для температурно-контрольованого регулювання інтенсивності фотолюмінесценції, що є важливим для її потенційних застосувань в фотоніці, біології та медицині, наприклад в якості термочутливих флуоресцентних оптичних перемикачів та міток або внутрішньоклітинних флуоресцентних термометрів.

2. Результати наших досліджень наносистем зі структурно подібними фотосенсибілізаторами хлоринного типу показують, що придатність до використання полімеру D-g-PNIPAM в якості розумної системи доставки ліків сильно залежить від властивостей інкапсульованого препарату.

3. Встановлено, що фотодинамічна терапія при опроміненні червоним світлом з довжиною хвилі 660 нм забезпечує високу бактерицидну здатність композиту “полімер/барвник метиленовий синій” при низькій сумарній дозі опромінення. Даний спосіб інактивації бактерій має мінімальний негативний ефект для живих тканин і сприяє швидкому загоєнню ран.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

1. Наносистеми D-g-PNIPAM / НЧ Au / КТ CdTe є перспективними для застосувань в фотоніці, біології та медицині, наприклад в якості термочутливих флуоресцентних оптичних перемикачів та міток або внутрішньоклітинних флуоресцентних термометрів.

2. Наносистема “D-g-PNIPAM/хлорин еб” може бути використана в якості розумної системи доставки ліків при фотодинамічній терапії.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Фундаментальні дослідження представленого Проєкту у 2020 р. слугуватимуть науковим підґрунтям для розв’язання задач з прогнозованим результатом в області створення матеріалів нового покоління для фотоніки та оптоелектроніки. Розвиток фотоніки та оптоелектроніки має стратегічне значення для економіки України, оскільки її конкурентоспроможність стимулює розвиток енергозберігаючих технологій, сучасних інформаційних систем, засобів зв’язку тощо. Використання сучасних оптико-електронних засобів визначає технічний рівень озброєння армії. Тому створення нових гібридних плазмонно-полімерних систем та наноконкомпозитів для використання в фотоніці та оптоелектроніці є фундаментом для розвитку оборонних галузей промисловості.

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту

Професор

(посада)

Єщенко О.А.

ПІБ

(підпис)

