

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ХОРТ ПАВЛО СЕРГІЙОВИЧ**

УДК 535.21; 535.37; 535.34; 543.4;

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ПЛАЗМОННЕ ПІДСИЛЕННЯ ОПТИЧНИХ**

**ВЛАСТИВОСТЕЙ ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМ**

**“ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФЛЮОРОФОР”**

104 «Фізика та астрономія»

10 «Природничі науки»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело  
\_\_\_\_\_ (Хорт П.С.)

Науковий керівник:

**Єщенко Олег Анатолійович,**  
доктор фізико-математичних наук,  
професор

Київ – 2026

## АНОТАЦІЯ

*Хорт П.С.* Плазмонне підсилення оптичних властивостей гібридних наносистем “полімер – наночастинки металу – флюорофор” – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 104 «Фізика та астрономія» (10 – Природничі науки). – Київський національний університет імені Тараса Шевченка. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, 2026.

Дисертаційна робота присвячена вивченню плазмонних ефектів в потрійних гібридних наносистемах типу “полімер – наночастинки металу – флюорофор”. Дисертація складається зі вступу, п’яти оригінальних розділів, висновків, списку використаних джерел та додатку.

У вступі наведено обґрунтування вибраної теми досліджень, визначено мету, сформульовано об’єкт та предмет досліджень, окреслено методи проведення досліджень, вказано зв’язок роботи з науковими програмами та апробацію досліджень.

У першому розділі зроблено огляд сучасного стану досліджень за обраною тематикою. Розглянуто механізми виникнення поверхневого плазмонного резонансу в наночастинках металів, застосування таких частинок, та особливості плазмонного підсилення оптичних процесів металевими наночастинками. Викладено основи теорії гібридизації плазмонних та екситонних станів. Наведено інформацію про застосування термочутливих полімерів в фотоніці та медицині, а також описано фізичний принцип фотодинамічної терапії.

У другому розділі міститься опис об’єктів досліджень, їх синтезу та виготовлення, а також детальна інформація про використані в роботі експериментальні методи досліджень. Досліджувані системи – трьохкомпонентні наногібриди “полімер – наночастинки металу –

флюорофор” досліджувалися переважно оптичними методами, а саме шляхом вимірювання спектрів поглинання та фотолюмінесценції, а також за допомогою методу динамічного розсіяння світла. Додатково, для визначення морфології систем було застосовано метод просвічуючої електронної мікроскопії.

В третьому розділі розглядаються системи “термочутливий полімер D-g-PNIPAM – наночастинки золота – флюорофор”. Як флюорофор використовувалися органічний барвник перілендіїмід та квантові точки CdTe. У спектрі поглинання водного розчину наночастинок D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe спостерігалось розщеплення піку поглинання, яке вказує на утворення плекситонів – квазічастинок у гібридній наносистемі, що виникають внаслідок резонансної взаємодії (гібридизації) поверхневих плазмонів у наночастинках Au та екситонів у квантових точках CdTe. Величина плекситонного розщеплення (0,84 еВ) виявилася більшою, ніж комбінована спектральна ширина піків плазмона та екситона (0,11 еВ), що свідчить про існування сильного плазмон-екситонного зв’язку. Для систем D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI було виявлено оборотний ефект підсилення-гасіння фотолюмінесценції в 1,5 рази під час циклу нагрівання-охолодження в діапазоні температур 25–47 °С.

В четвертому розділі було розглянуто системи “полімер – наночастинки металу – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”. Як полімер використовувалися декстран-поліакриламід та декстран-поліакриламід в аніонній формі. Матеріалом металевих наночастинок були Au або Ag. Для систем ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au, котрі виявилися стійкими до агрегації та випадіння осаду, було виявлено плазмонне підсилення фотогенерації синглетного кисню в 3.2 рази, а також високий рівень бактерицидної ефективності відносно колоній *Staphylococcus aureus*. У системах ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au було отримано 2.6-кратне плазмонне підсилення фотогенерації синглетного кисню порівняно з вільним ZnTPP, а також швидку та ефективну інактивацію *Staphylococcus aureus* такими системами під впливом світлового

опромінення. Для систем ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag фотодинамічну ефективність було оцінено *in vitro* з використанням ракових клітин лінії LNCaP. Для обох систем спостерігалось збільшення рівня фотогенерації синглетного кисню, та було виявлено, що наногібриди ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag мають значно вищу протиракову активність (82%) порівняно з ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au (45%).

У п'ятому розділі було досліджено системи ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Було виявлено агрегаційну стабільність таких систем до 7 днів після змішування. Спостерігалось збільшення фотогенерації синглетного кисню такою системою в 2.7 рази порівняно з вільним ZnTPP. Біологічні дослідження *in vitro* з *Staphylococcus aureus* показали хороший рівень фотодинамічної ефективності такої системи, причому було помічено значне підвищення бактерицидної ефективності системи при температурах вище точки LCST переходу та низьких дозах світлового опромінення.

**Ключові слова:** *наночастинки, поверхневий плазмонний резонанс, плазмонне підсилення, полімерні наноносії, фотодинамічна терапія, плекситони, флюоресценція.*

## SUMMARY

Khort P.S. Plasmonic enhancement of optical properties of three-component hybrid nanosystems “polymer – metal nanoparticles – fluorophore”. Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 104 “Physics and Astronomy” (10 – Natural Sciences). – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, 2026.

The dissertation is devoted to the study of plasmonic effects in ternary hybrid nanosystems of the type of “polymer – metal nanoparticles – fluorophore”. The dissertation consists of an introduction, five original chapters, conclusions, a list of used sources and an appendix.

The introduction provides a justification for the chosen research topic, defines the goal, formulates the object and subject of research, outlines the methods of conducting research, indicates the connection of the work with scientific programs and testing of research.

The first section provides an overview of the current state of research on the chosen topic. The mechanisms of the emergence of surface plasmon resonance in metal nanoparticles, the application of such particles, and the features of plasmon enhancement of optical processes by metal nanoparticles are considered. The basics of the theory of hybridization of plasmonic and excitonic states are outlined. Information is provided on the application of thermoresponsive polymers in photonics and medicine, and the physical principle of photodynamic therapy is also described.

The second section contains a description of the research objects, their synthesis and fabrication, as well as detailed information on the experimental research methods used in the work. The studied systems – three-component nanohybrids "polymer - metal nanoparticles - fluorophore" were studied primarily

by optical methods, namely by measuring the absorption and photoluminescence spectra, as well as by using the dynamic light scattering method. Additionally, the transmission electron microscopy method was used to determine the morphology of the systems.

The third section considers the systems "thermosensitive polymer D-g-PNIPAM - gold nanoparticles - fluorophore". The organic dye perylenediimide and CdTe quantum dots were used as fluorophores. In the absorption spectrum of the aqueous solution of D-g-PNIPAM/Au NPs/CdTe QDs, the absorption peak splitting was observed, which indicated the formation of plexcitons - quasiparticles in the hybrid nanosystem, arising from the resonant coupling (hybridization) of surface plasmons in Au nanoparticles and excitons in CdTe quantum dots. The plexciton splitting (0.84 eV) was found to be sufficiently larger than the combined spectral width of the plasmon and exciton peaks (0.11 eV), which indicates the presence of strong plasmon-exciton coupling. For the D-g-PNIPAM/Au NPs/PDI systems, a reversible effect of photoluminescence enhancement-quenching by a factor of 1.5 was found during the heating-cooling cycle in the temperature range of 25–47 °C.

In the fourth section, we considered the systems "polymer – metal nanoparticles – photosensitizer zinc tetraphenylporphyrin". Dextran-polyacrylamide and dextran-polyacrylamide in anionic form were used as polymers. Metal nanoparticles of Au or Ag were used. For the ZnTPP/D-g-PAA/Au NP systems, which were stable to aggregation and precipitation, a 3.2-fold plasmon enhancement of singlet oxygen photogeneration was revealed, and a high level of bactericidal efficiency against *Staphylococcus aureus* colonies was found. In the ZnTPP/D-g-PAAan/Au NP systems, a 2.6-fold plasmon enhancement of singlet oxygen photogeneration was obtained compared to bare ZnTPP, as well as rapid and effective inactivation of *Staphylococcus aureus* by such systems under the influence of light irradiation. For the systems ZnTPP/D-g-PAA/Au NPs and ZnTPP/D-g-PAA/Ag NPs, the photodynamic efficiency was evaluated in vitro using LNCaP cancer cells. For both systems, an increase in the level of singlet oxygen

photogeneration was observed, and it was found that the ZnTPP/D-g-PAA/Ag NPs nanohybrids have significantly higher anticancer activity (82%) compared to ZnTPP/D-g-PAA/Au NPs (45%).

In the fifth section, the ZnTPP/D-g-PNIPAM/Au NPs systems were studied. The aggregation stability of such systems was revealed up to 7 days after mixing. A 2.7-fold increase in singlet oxygen photogeneration was observed with this system compared to bare ZnTPP. In vitro biological studies with *Staphylococcus aureus* showed a good level of photodynamic efficiency of this system, with a significant increase in the bactericidal efficiency of the system at temperatures above the LCST transition point and low doses of light irradiation.

**Keywords:** *nanoparticles, surface plasmon resonance, plasmon enhancement, polymer nanocarriers, photodynamic therapy, plexcitons, fluorescence.*

## Список публікацій здобувача за темою дисертації

### Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації

- [1] Yeshchenko O.A., Khort P.S., Kutsevol N.V., Prokopets V.M., Kapush O., Dzhagan V. Temperature Driven Plasmon-Exciton Coupling in Thermoresponsive Dextran-Graft-PNIPAM/Au Nanoparticle/CdTe Quantum Dots Hybrid Nanosystem. *Plasmonics*, 2021, 16 (4), pp. 1137 – 1150. DOI: 10.1007/s11468-021-01378-w (Scimago: Q3).
- [2] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Naumenko A.P., Marinin A.I. Plasmonic enhancement of the antibacterial photodynamic efficiency of a zinc tetraphenylporphyrin photosensitizer/dextran graft polyacrylamide anionic copolymer/Au nanoparticles hybrid nanosystem. *RSC Advances*, 2022, 12 (1), pp. 11 – 23. DOI: 10.1039/d1ra08198e (Scimago: Q1).
- [3] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Naumenko A.P., Marinin A.I. Zinc TetraPhenylPorphyrin / Dextran-Graft-PolyAcrylAmide / Gold Nanoparticles Hybrid Nanosystem for Photodynamic Therapy: Plasmonic Enhancement Effect. *Nanomedicine Research Journal*, 2022, 7 (2), pp. 173 – 188. DOI: 10.22034/nmrj.2022.02.007 (Scimago: Q3).
- [4] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Marinin A.I., Cheng L., Nie G. Thermoresponsive Zinc TetraPhenylPorphyrin Photosensitizer/Dextran Graft Poly(N-IsoPropylAcrylAmide) Copolymer/Au Nanoparticles Hybrid Nanosystem: Potential for Photodynamic Therapy Applications. *Nanomaterials*, 2022, 12 (15), art. no. 2655. DOI: 10.3390/nano12152655 (Scimago: Q1).
- [5] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Kuziv Y.I., Hudhomme P., Krupka O.M. Dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / perylenediimide hybrid system as thermosensitive optical switches and fluorescent

labels for potential use in nanophotonics and biomedical applications. *Optical Materials*, 2022, 131, art. no. 112753. DOI: 10.1016/j.optmat.2022.112753 (Scimago: Q1).

[6] Chumachenko V., Virych Pavlo, Nie G., Virych Petro, Khort P., Tkachenko A., Prokopiuk V., Lukianova N., Zadvornyi T., Rawiso M., Ding L., Kutsevol N. Combined dextran-graft-polyacrylamide/zinc oxide nanocarrier for effective anticancer therapy in vitro. *International Journal of Nanomedicine*, 2023, 18, pp. 4821 – 4838. DOI: 10.2147/IJN.S416046 (Scimago: Q1).

[7] Yeshchenko O., Kutsevol N., Virych P., Khort P., Virych P., Chumachenko V., Cekhun V. Anti-cancer activity of zinc-tetraphenylporphyrin photosensitizer / dextran-graft-polyacrylamide copolymer / Au(Ag) nanoparticle nanohybrids. *RSC Advances*, 2024, 14 (8), pp. 5045 – 5054. DOI: 10.1039/d3ra07825f (Scimago: Q1).

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

[8] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Yu.I., Naumenko A.P., Marinin A.I., “Study of zinc tetraphenylporphyrin / dextran graft polyacrylamide copolymer / Au nanoparticles nanosystem applicability for photodynamic therapy”, 7th International Conference NBP-2021 “Nanobiophysics: Fundamentals and Applied Aspects” (Kharkiv, Ukraine, October 4 – 8, 2021).

[9] Yeshchenko O., Khort P., Kutsevol N., Kapush O., Dzhagan V., “Plexcitons in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots nanosystem: temperature effects”, XXV Galyna Puchkovska International School-Seminar “Spectroscopy of Molecules and Crystals” (Kyiv, Ukraine, September 21–24, 2021).

[10] Yeshchenko O., Khort P., Kutsevol N., Kapush O., Dzhagan V., “Plexcitons in Thermoresponsive Dextran-Graft-PNIPAM/Au Nanoparticles/CdTe Quantum Dots Nanosystem: Temperature Effects”, 2021 IEEE 11th International Conference

“Nanomaterials: Applications & Properties” (NAP-2021) (Odesa, Ukraine, September 5-11, 2021).

[11] Yeshchenko O.A., Khort P.S., Kutsevol N.V., Kapush O., Dzhagan V., “Temperature driven plasmon-exciton coupling in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots hybrid nanosystem”, 9th International Conference “Nanotechnology and nanomaterials” NANO-2021 (Lviv, Ukraine, August 25 – 27, 2021).

[12] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Naumenko A.P., Marinin A.I., “Zinc tetraphenylporphyrin / dextran-graft-polyacrylamide / gold nanoparticles nanosystem for photodynamic therapy: optical properties and bactericidal activity”, 7th International Caucasian Symposium on Polymers & Advanced Materials (Tbilisi, Georgia, July 27 – 30, 2021).

[13] Yeshchenko O.A., Khort P.S., Kutsevol N.V., Kapush O., Dzhagan V., “Temperature driven plasmon-exciton coupling in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots hybrid nanosystems”, 7th International Caucasian Symposium on Polymers & Advanced Materials (Tbilisi, Georgia, July 27 – 30, 2021).

[14] Yeshchenko O., Khort P., Kutsevol N., Kapush O., Dzhagan V., “Plexcitons in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots nanosystem: temperature effects”, 11th Intern. Conf. on Metamaterials, Photonic Crystals and Plasmonics (Warsaw, Poland, July 20 – 23, 2021).

[15] O. Yeshchenko, N. Kutsevol, P. Khort, Pavlo Virych, V. Chumachenko, Petro Virych, Anti-cancer activity of zinc-tetraphenylporphyrin photosensitizer / dextran-graft-polyacrylamide copolymer / Au(Ag) nanoparticles nanohybrids, in 11th International Conference "Nanotechnology and nanomaterials" NANO-2023 (Bukovel, Ukraine, August 16 – 19, 2023).

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	15
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ 1 ВПЛИВ ПЛАЗМОННОГО ПОЛЯ НА ЕЛЕКТРОННІ ПРОЦЕСИ В ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМАХ “ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФЛЮОРОФОР”: СТАН ПРОБЛЕМИ .....	22
1.1 Поверхневий плазмонний резонанс у нанорозмірних металах .....	22
1.2 Явище плазмонного підсилення оптичних процесів.....	30
1.3 Плазмон-екситонна взаємодія в наносистемах “наночастинка металу – флюорофор” .....	33
1.4 Фотодинамічний ефект та його використання в медицині .....	41
РОЗДІЛ 2 .....	50
МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ НАНОСИСТЕМ .....	50
2.1 Синтез досліджуваних гібридних наносистем та їхніх компонентів.....	50
2.1.1 Синтез гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au .....	50
2.1.2 Синтез гібридних наносистем D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA/НЧ Ag.....	50
2.1.3 Синтез гібридної наносистеми D-g-PAAan/НЧ Au.....	51
2.1.4 Синтез квантових точок CdTe.....	52
2.1.5 Синтез карбоксилатної солі натрію N,N-карбоксиметил-1,6,7,12-тетрахлорперилендіїмідю (PDI).....	53
2.1.6 Приготування наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe .....	54
2.1.7 Приготування гібридних наносистем D-g-PNIPAM/PDI та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI .....	54
2.1.8 Приготування гібридних наносистем ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au .....	55
2.1.9 Приготування гібридних наносистем ZnTPP/D-g-PAA, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag.....	55
2.1.10 Приготування наносистем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au .....	56
2.2 Оптична характеристика зразків .....	56
2.2.1 Дослідження зразків методами спектроскопії поглинання та фотолюмінесценції ..	56
2.2.2 Динамічне розсіяння світла .....	59
2.3 Просвічуюча електронна мікроскопія зразків .....	59
2.4 Протоколи біологічних досліджень наносистем .....	59
2.4.1 Антибактеріальна активність наносистем ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au .....	59
2.4.2 Біологічна активність наносистем ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag.....	60
2.4.3 Антибактеріальна активність наносистем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au.....	63

<b>РОЗДІЛ 3 ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМ “ТЕРМОЧУТЛИВИЙ ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФЛЮОРОФОР”</b> .....	65
<b>3.1 Температурно-керована плазмон-екситонна взаємодія в термочутливій гібридній наносистемі “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – квантові точки CdTe”</b> .....	65
3.1.1 Дослідження морфології системи за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії.....	65
3.1.2 Прояви плазмон-екситонної взаємодії в спектрах поглинання розчину наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe.....	66
3.1.3 Часові зміни в спектрі фотолюмінесценції системи D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe.	69
3.1.4. Еволюція спектрів фотолюмінесценції D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe при проходженні через точку LCST переходу. Температурно керована плазмон-екситонна взаємодія.....	72
<b>3.2 Вплив температури на фотолюмінесценцію гібридної наносистеми “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – перілендїїмід” як фізична основа для термочутливих оптичних перемикачів та люмінесцентних міток.....</b>	82
3.2.1. Концентраційні залежності спектрів поглинання та ФЛ водних розчинів PDI. ....	82
3.2.2. Концентраційні залежності спектрів поглинання та фотолюмінесценції водних розчинів систем D-g-PNIPAM/PDI, D-g-PNIPAM/НЧ Au та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI. ....	84
3.2.3. Вплив температурно-індукованого фазового LCST переходу на фотолюмінесценцію гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI .....	88
Висновки до розділу 3.....	96
<b>РОЗДІЛ 4 ПЛАЗМОННЕ ПІДСИЛЕННЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМ “ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОР”</b> .....	97
<b>4.1 Плазмонне підсилення антибактеріальної фотодинамічної ефективності гібридних наносистем “полімер декстран-поліакриламід – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”</b> .....	97
4.1.1 Дослідження розмірів та морфології системи за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії .....	97
4.1.2 Прояви зв’язування молекул фотосенсибілізатора ZnTPP з макромолекулами D-g-РАА та гібридними макромолекулами D-g-РАА/НЧ Au в спектрах поглинання та люмінесценції досліджуваних систем .....	100
4.1.3 Часова залежність фотолюмінесценції гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au.....	104
4.1.4 Концентраційна залежність фотолюмінесценції гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au .....	106
4.1.5 Фотогенерація синглетного кисню гібридними наносистемами ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au.....	110
4.1.6 Бактерицидний ефект досліджуваних гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au.....	111

<b>4.2 Плазмонне підсилення антибактеріальної фотодинамічної ефективності гібридних наносистем “аніонний полімер декстран-поліакриламід – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”</b> .....	115
4.2.1 Дослідження систем D-g-PAAan, ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au за допомогою методу динамічного розсіяння світла .....	115
4.2.2 Спектральні прояви зв’язування молекул фотосенсибілізатора ZnTPP з полімерними макромолекулами D-g-PAAan та D-g-PAAan/НЧ Au .....	116
4.2.3 Часова залежність спектрів фотолюмінесценції систем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au .....	122
4.2.4 Концентраційні залежності спектрів фотолюмінесценції систем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au .....	124
4.2.5 Фотогенерація синглетного кисню системами ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au .....	128
4.2.6 Бактерицидна фотодинамічна активність систем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au .....	129
<b>4.3 Плазмонне підсилення антиракової фотодинамічної ефективності гібридних наносистем “полімер декстран-поліакриламід – наночастинки Au (Ag) – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”</b> .....	133
4.3.1 Спектри інфрачервоного поглинання систем D-g-PAA, D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA/НЧ Ag .....	133
4.3.2 Дослідження систем D-g-PAA, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag за допомогою динамічного розсіяння світла та просвічуючої електронної мікроскопії ....	134
4.3.3 Концентраційні залежності поглинання світла та фотолюмінесценції розчинів систем ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag .....	137
4.3.4 Дослідження цитотоксичності ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag для клітин раку простати LNCaP .....	143
4.3.5 Визначення рівня активних форм кисню в досліджуваних ракових клітинах .....	147
Висновки до розділу 4 .....	149
<b>РОЗДІЛ 5 ТЕМПЕРАТУРНА МОДУЛЯЦІЯ ПЛАЗМОННОГО ПІДСИЛЕННЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ГІБРИДНОЇ НАНОСИСТЕМИ “ТЕРМОЧУТЛИВИЙ ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОР”</b> .....	150
<b>5.1 Температурна модуляція плазмонного підсилення фотодинамічної ефективності гібридної наносистеми “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”</b> .....	150
5.1.1 Розмірна характеристика системи за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії та динамічного розсіяння світла .....	150
5.1.2 Спектральні прояви зв’язування ZnTPP з полімерними макромолекулами D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au .....	154
5.1.3 Концентраційні залежності спектрів поглинання та фотолюмінесценції ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au .....	158
5.1.4 Температурно індуквані процеси в гібридних наносистемах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au .....	163

<b>5.1.5 Підсилення генерації синглетного кисню в гібридних наносистемах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au .....</b>	<b>167</b>
<b>5.1.6 Фотодинамічна антибактеріальна активність систем D-g-PNIPAM, D-g-PNIPAM/НЧ Au, ZnTPP/D-g-PNIPAM, ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au in vitro .....</b>	<b>168</b>
<b>Висновки до розділу 5.....</b>	<b>176</b>
<b>ВИСНОВКИ .....</b>	<b>177</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....</b>	<b>180</b>
<b>ДОДАТОК 1.....</b>	<b>192</b>

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ПЕМ – просвічуюча електронна мікроскопія,

НЧ – наночастинка,

КТ – квантова точка,

ППР – поверхневий плазмонний резонанс,

ФЛ – фотолюмінесценція,

D-g-РАА – декстран-поліакриламід,

D-g-РААan – декстран-поліакриламід аніонний,

D-g-PNIPAM – декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід),

LCST (Lower Critical Solution Temperature) – Нижня критична температура розчину,

SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) – поверхнево підсилена Раманівська спектроскопія,

КУО – Колонієутворюючі одиниці,

TNBC (Triple-Negative Breast Cancer) – Тричі негативний рак молочної залози.

## ВСТУП

### Обґрунтування актуальності дослідження

Явище локального підсилення електромагнітного поля при збудженні поверхневого плазмонного резонансу в металевих наноструктурах робить такі плазмонні наноструктури перспективними для підсилення електронних процесів у флюорофорах, а отже і їх спектральних властивостей, що зумовлює використання таких плазмонних наноструктур у методах спектроскопії поверхневого підсилення (surface enhanced spectroscopy) таких, як поверхнево підсилене раманівське розсіяння світла (SERS), поверхнево підсилене поглинання (SEA), поверхнево підсилена флюоресценція (SEF), поверхнево підсилена генерація другої гармоніки (SESHG) та ін.

Однак площинні плазмонні структури, які застосовуються для SERS, та часто використовуються для досліджень плазмонного підсилення спектральних властивостей флюорофорів мають ряд відмінностей у застосуванні порівняно з плазмонними металевими наночастинками. Так, незважаючи на те що вони є відносно простими для виготовлення та досліджень, їх розмір обмежує потенційні застосування. Плазмонні металеві наночастинки, в свою чергу, є зручними для, наприклад, біологічних та медичних застосувань, однак для металевих наночастинок складніше створювати стабільні системи котрі підтримували б просторову близькість та стабільний рівень взаємодії між металевою наночастинкою та підсилюваним плазмонним полем елементом. Тому, поверхні металевих наночастинок часто вкривають лігандними оболонками або полімерами.

В цій роботі ми розглядаємо підхід, який полягає у вирощуванні металевих наночастинок в нанорозмірних полімерних матрицях. При цьому утворюються гібридні наносистеми типу “полімер – наночастинки металу”, в яких наночастинки металу мають досить малі, до 10 нм, розміри та сферичну форму. Передбачається, що додаткове включення в такі гібридні наносистеми флюорофорів дозволить створити досить стійкі нанорозмірні системи, в яких

забезпечуватиметься стабільна та контрольована взаємодія між інтенсивним електромагнітним полем плазмонних наночастинок та флюорофором.

Особливо цікавими такі гібридні наносистеми є для біологічних та медичних застосувань, адже їх невеликий розмір дозволяє напряду проникати всередину тканин, та навіть окремих клітин або бактерій, що дозволило б використовувати їх як флюоресцентні мітки або для фотодинамічної терапії. Саме застосування для фотодинамічної терапії є особливо цікавим, оскільки воно б дозволило поєднати вже існуючі дослідження в області медичних застосувань металевих наночастинок з фотодинамічною терапією.

### **Мета дослідження**

Метою роботи є вивчення впливу плазмонних ефектів на властивості потрійних гібридних наносистем “полімер – наночастинок металу – флюорофор”, та визначення потенційних застосувань таких систем, зокрема для фотодинамічної терапії у випадку використання в ролі флюорофора молекул фотосенсибілізатора.

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

- Створити гібридні системи “полімер – наночастинок металу”, використовуючи різні полімери та плазмонні метали (золото, срібло).
- Експериментально виявити зв’язування флюорофора з наногібридами “полімер – наночастинок металу” для підтвердження утворення потрійних гібридних наносистем “полімер – наночастинок металу – флюорофор”.
- Експериментально дослідити спектральні характеристики потрійних гібридних наносистем “полімер – наночастинок металу – флюорофор” в залежності від концентрацій окремих компонентів, температури та часу для з’ясування механізмів

взаємодії між молекулами флюорофора та плазмонними наночастинками.

- Експериментально дослідити біологічну активність систем “полімер – наночастинки металу – флюорофор”, що містять молекули флюорофора-фотосенсибілізатора.

**Об’єкт досліджень:** колоїдні розчини гібридних наносистем “полімер – наночастинки металу – флюорофор”.

**Предмет досліджень:** вплив плазмонних ефектів на спектральні та біологічні властивості гібридних наноструктур “полімер – наночастинки металу – флюорофор”.

#### **Методи проведення досліджень.**

У дисертаційній роботі були використані здебільшого спектроскопічні методи досліджень, такі як оптичне та ІЧ (FTIR) поглинання світла і фотолюмінесценція. Для вивчення морфології та розмірної характеристики досліджуваних наносистем було використано просвічуючу електронну мікроскопію та метод динамічного розсіяння світла.

#### **Наукова новизна отриманих результатів:**

1. Було виявлено, що внаслідок сильної плазмон-екситонної взаємодії в системах D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe утворюються гібридні плазмон-екситонні квазічастинки – плекситони.
2. Виявлено концентраційні залежності спектральних властивостей потрійних гібридних наносистем “полімер – наночастинки металу – флюорофор” та визначено оптимальні концентрації компонентів, які дозволяють мінімізувати агрегацію флюорофорів та досягти максимального рівня плазмонного підсилення оптичних властивостей систем.

3. Спектроскопічними методами було доведено часову стабільність потрійних гібридних наносистем “полімер – наночастинки металу – флюорофор” та встановлено факт поступового зв’язування флюорофора з системою “полімер – наночастинки металу”.
4. Для систем “полімер – наночастинки металу – фотосенсибілізатор”, було виявлено високий рівень фотодинамічної активності, котрий перевищує сумарну активність окремих компонентів.

### **Зв’язок роботи з науковими програмами, планами та темами.**

Робота автора над дисертаційною роботою була складовою частиною виконання науково-дослідного проекту “Плазмонні гібридні наносистеми “метал-полімер-флюорофор” з підсиленням оптичним відгуком для фотоніки та біомедичних застосувань”, фінансованого Національним фондом досліджень України (2020-2022 рр, реєстр. № 2020.02/0022), та держбюджетного науково-дослідного проекту кафедри експериментальної фізики фізичного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка, фінансованого Міністерством освіти і науки України “Наноструктуровані метаповерхні для сенсорики та фотовольтаїки” (2022-2024 рр, реєстр. № 0122U001956).

### **Особистий внесок здобувача.**

Дисертація є самостійною науковою працею, в якій висвітлені власні ідеї дисертанта. Використані в дисертації ідеї, гіпотези, дані чи інші матеріали інших авторів мають посилання на першоджерело та використовуються у тексті для обґрунтування ідей дисертанта.

Автор брав участь у постановці мети досліджень та повністю виконав експериментальні дослідження методами поглинання світла, фотолюмінесценції та динамічного розсіяння світла. Автор виконав математичну обробку, а також частковий аналіз та оформлення отриманих

результатів, часткову підготовку матеріалів для публікацій наукових статей та тез доповідей на конференціях.

Синтез полімерів, подвійних гібридних наносистем “полімер – наночастинки металу”, барвника PDI, а також електронну мікроскопію зразків було виконано співробітниками хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Синтез квантових точок CdTe було здійснено співробітниками Інституту фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАНУ.

Біологічні дослідження проводилися співробітниками хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка та Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАНУ.

Вибір теми, постановка завдань дослідження, обговорення результатів та їх узагальнення проведено спільно з науковим керівником проф. Єщенком О.А.

### **Апробація результатів дисертації.**

Основні результати, отримані в ході виконання цього дисертаційного дослідження, були представлені на міжнародних наукових конференціях: 11th International Conference "Nanotechnology and nanomaterials" NANO-2023 (Bukovel, Ukraine, August 16 – 19, 2023), 12th International Conference "Nanotechnology and nanomaterials" NANO-2024 (Uzhhorod, Ukraine, August 21 – 24, 2024), 2024 IEEE 14th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties” (Riga, Latvia September 8–13, 2024), The XXVIth Galyna Puchkovska International School-Seminar "Spectroscopy of Molecules and Crystals" (Wojanow, Poland September 22-25, 2024), 12th International Conference "Nanotechnology and nanomaterials" NANO-2024 (Uzhhorod, Ukraine, August 21 – 24, 2024), 13th International Conference "Nanotechnology and nanomaterials" NANO-2025 (Bukovel, Ukraine, August 20 – 23, 2025).

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових статей у міжнародних виданнях. Усі 7 статей опубліковані в журналах, індексованих у наукометричній базі Scopus: з них 5 статей – у журналах квартилю Q1, та 2 – Q3. Також опубліковано 8 тез доповідей на міжнародних конференціях.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 194 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел із 96 посилань. Обсяг основного тексту дисертації (вступ, розділи дисертації та висновки) складає 164 сторінки друкованого тексту. Робота містить 78 рисунків та 1 таблицю.

## РОЗДІЛ 1

# ВПЛИВ ПЛАЗМОННОГО ПОЛЯ НА ЕЛЕКТРОННІ ПРОЦЕСИ В ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМАХ “ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФЛЮОРОФОР”: СТАН ПРОБЛЕМИ

### 1.1 Поверхневий плазмонний резонанс у нанорозмірних металах

Давно відомо, що характеристики металевих наночастинок, суттєво відрізняються від характеристик об'ємних металів. Зокрема їхні оптичні властивості викликають інтерес у фізиків вже тривалий час, доказом чого є, наприклад, дослідження Фарадеєм колоїдного золота в середині XIX століття [1]. Сучасні літографічні та хімічні методи дозволяють синтезувати наночастинок благородних металів у широкому діапазоні розмірів та форм, котрі, в свою чергу, суттєво впливають на їхні властивості. Ці особливості пов'язані зі збудженням в наночастинках металів особливих власних мод колективних когерентних електронних коливань – поверхневих плазмонів (surface plasmons), які ще називають локалізованими плазмонами (localized plasmons) або частинковими плазмонами (particle plasmons). Явище збудження таких квазічастинок світлом з частотою, резонансною з частотою цих коливань, називають поверхневим плазмонним резонансом, ППР (surface plasmon resonance, SPR). З усіх відомих металів найменшим загасанням плазмових коливань характеризуються благородні метали – срібло та золото. Тому в наночастинках саме цих металів ППР є найбільш яскраво вираженим, а отже плазмонні ефекти є найсильнішими. Оскільки ці поверхневі плаزمони являють собою поверхневі коливання, їхні характеристики (зокрема резонансна частота) залежать не лише від властивостей самих частинок, а й від властивостей їхнього оточення, зокрема діелектричної проникності.

При взаємодії металевих плазмонних наночастинок зі світлом частина фотонів поглинається, а частина – розсіюється [2]. Наночастинок, яким притаманне явище поверхневого плазмонного резонансу (в першу чергу НЧ

Ag і Au), мають високі молярні коефіцієнти екстинкції для поглинання, з величиною до приблизно  $10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , та інтенсивне релєївське розсіяння, яке зазвичай є на багато порядків сильнішим, ніж для не-плазмонних НЧ [3]. Наприклад, сферична наночастинка Ag з діаметром 80 нм при взаємодії зі світлом з довжиною хвилі 445 нм має поперечний переріз розсіяння  $3 \times 10^{-2} \text{ мкм}^2$ , що на 3 порядки перевищує переріз екстинкції для сфери аналогічного розміру заповненої барвником флуоресцеїном. Однак, на відміну від звичайних флюорофорів, плазмонні наночастинки не знебарвлюються під дією світла, і тому можуть служити надійними мітками для біосенсорів, імуноферментних аналізів, клітинної візуалізації та поверхнево-контрастної спектроскопії.

Вперше аналітично задача про взаємодію сферичної частинки довільного розміру зі світлом була розв'язана Мі в 1908 році шляхом розв'язання рівнянь Максвелла [4]. Класична теорія Мі дає результати досить близькі до експериментальних, однак втрачає точність при спробі описати дуже маленькі частинки. На даний момент вже отримані точні аналітичні розв'язки задачі про поверхневі плазмонні моди для: сфероїдів (куля, еліпсоїди обертання та тривісний еліпсоїд), циліндра та диска. Для куба аналітичний розв'язок отримано лише в електростатичному (дипольному) наближенні [5]. Розглянемо теорію Мі дещо детальніше. Для початку, враховуючи, що плазмонні метали Ag і Au є діаманетиками, вважатимемо частинку та середовище в якій вона знаходиться немагнітними,  $\mu = 1$ . Частинка має певну діелектричну проникність  $\varepsilon = \varepsilon_1 + i\varepsilon_2$  і знаходиться в непоглинаючій матриці з діелектричною проникністю  $\varepsilon_m > 0$ . Нехай падаюча електромагнітна хвиля поширюється у напрямку осі  $z$  і поляризована вздовж осі  $x$ . Система рівнянь Максвелла для такої системи матиме вигляд

$$\text{rot} \vec{H} = -\frac{i\omega\varepsilon}{c} \vec{E} \quad (1.1)$$

$$\text{rot} \vec{E} = \frac{i\omega\mu}{c} \vec{H} \quad (1.2)$$

$$\operatorname{div}\vec{E} = 0 \quad (1.3)$$

$$\operatorname{div}\vec{H} = 0, \quad (1.4)$$

звідки очевидно випливають хвильові рівняння для напруженостей електричного та магнітного полів

$$\Delta\vec{H} + k^2\vec{H} = 0 \quad (1.5)$$

$$\Delta\vec{E} + k^2\vec{E} = 0. \quad (1.6)$$

Тут  $k = \frac{\sqrt{\varepsilon}\omega}{c}$  – модуль хвильового вектора фотона в середовищі з діелектричною проникністю  $\varepsilon$ . Мі довів, що розв'язки таких хвильових рівнянь можуть бути представлені у вигляді

$$\vec{E} = a\vec{M} + b\vec{N} \quad (1.7)$$

$$\vec{H} = c\vec{M} + d\vec{N}, \quad (1.8)$$

де

$$\vec{M} = \operatorname{rot}(\vec{r}\psi) \quad (1.9)$$

$$\vec{N} = \frac{1}{k}\operatorname{rot}(\vec{M}), \quad (1.10)$$

а функція  $\psi$  являє собою розв'язок скалярного хвильового рівняння

$$\Delta\psi + k^2 = 0. \quad (1.11)$$

Розв'язок (1.11) можна знайти, перейшовши у сферичну систему координат і представивши функцію  $\psi$  у вигляді добутку трьох окремих функцій, кожна з яких залежить від однієї координат ССК. Розв'язавши ці рівняння можна отримати вирази для перерізів розсіяння і екстинкції світла окремою сферичною наночастинкою:

$$\sigma_{ext} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1)\operatorname{Re}(a_n + b_n) \quad (1.12)$$

$$\sigma_{sca} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1)(|a_n|^2 + |b_n|^2). \quad (1.13)$$

Тут

$$a_n = \frac{N\psi_n(Nx)\psi'_n(x) - \psi_n(x)\psi'_n(Nx)}{N\psi_n(Nx)\xi'_n(x) - \xi_n(x)\psi'_n(Nx)} \quad (1.14)$$

$$b_n = \frac{\psi_n(Nx)\psi'_n(x) - N\psi_n(x)\psi'_n(Nx)}{\psi_n(Nx)\xi'_n(x) - N\xi_n(x)\psi'_n(Nx)}, \quad (1.15)$$

де  $\psi_n(x) = xj_n(x)$  та  $\xi_n(x) = xh_n^{(1)}(x)$  – функції Рікатті-Бесселя та Рікатті-Ханкеля відповідно,  $j_n(x)$  це сферична функція Бесселя першого роду, а  $h_n^{(1)}(x)$  – сферична функція Ханкеля,  $N = \frac{k}{k_m} = \frac{n}{n_m}$  – відносний показник заломлення наночастинки відносна матриці,  $x = ka = \frac{2\pi n_m r}{\lambda}$ ,  $r$  – радіус НЧ,  $\lambda$  – довжина світлової хвилі у вакуумі.

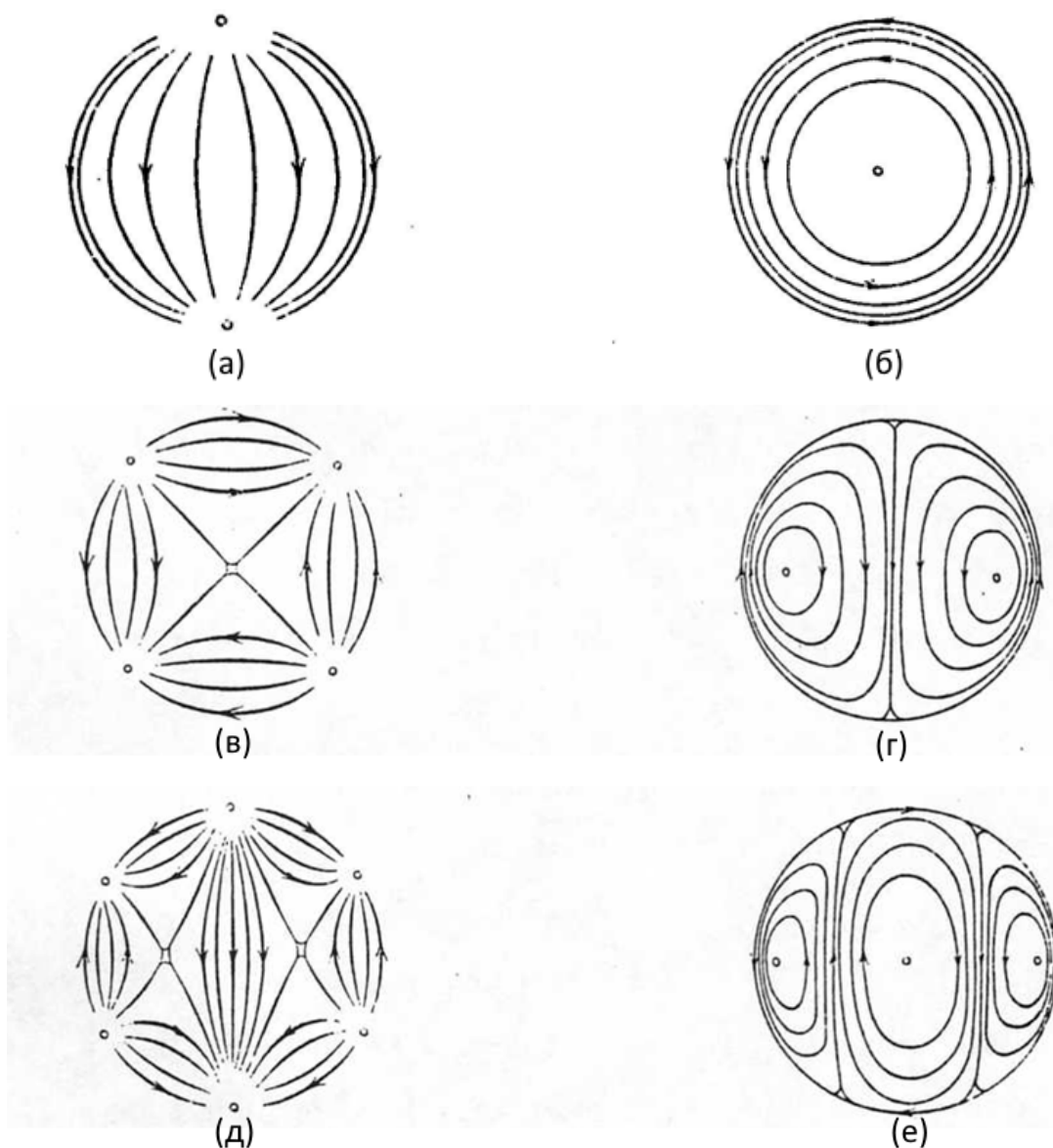
У даному випадку, кожне значення  $n$  відповідає мультиполю електромагнітного поля. Кожному  $n$  відповідає парціальна сферична хвиля, з електричною та магнітною складовими, амплітуди яких пропорційні  $a_n$  і  $b_n$  відповідно. Проаналізувавши вирази для перерізів розсіяння та екстинкції можна прийти до висновку, що внесок мод з більшим значенням  $n$  зростає при збільшенні розміру частинки. Так, для частинок, розмір яких значно менший за довжину світлової хвилі  $r \ll \lambda$ , можна обмежитись розглядом дипольної ( $n = 1$ ) моди, а квадрупольна ( $n = 2$ ), октупольна ( $n = 3$ ) і вищі моди дають вагомий внесок лише для НЧ з  $r \geq 75$  нм.

Отже, обмежимося розглядом дипольного внеску для малих ( $r \ll \lambda$ ) металевих НЧ. Тоді, врахувавши, що переріз поглинання можна знайти як  $\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_{sca}$ , можна отримати

$$\sigma_{sca} = \frac{8\pi}{3} k_m^4 r^6 \left| \frac{N^2 - 1}{N^2 + 2} \right|^2 = \frac{8\pi}{3} k_m^4 r^6 \left| \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + 2\varepsilon_m} \right|^2 \quad (1.16)$$

$$\sigma_{abs} = 4\pi k_m r^3 \text{Im} \left( \frac{N^2 - 1}{N^2 + 2} \right) = 4\pi k_m r^3 \text{Im} \left( \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + 2\varepsilon_m} \right). \quad (1.17)$$

Бачимо, що інтенсивність розсіяного світла  $I_{sca} \sim \sigma_{sca} \sim \frac{1}{\lambda^4}$ , а отже процес розсіяння світла плазмонними наночастинками є релєївським (пружним). Також видно, що інтенсивність розсіяного світла залежить від розміру частинки як  $I_{sca} \sim r^6$ , а інтенсивність поглинутого як  $I_{abs} \sim r^3$ . Отже, основний внесок в послаблення світлового променя, який проходить через систему, що містить малі невзаємодіючі наночастинки в матриці, вносить поглинання світла такими НЧ, а для системи великих НЧ більш суттєвим стає внесок розсіяння світла.



**Рис. 1.1.** Просторовий розподіл електричної (**а,в,д**) та магнітної (**б,г,е**) складових поля сферичної частинки. (**а,б**) відповідає дипольним збудженням, (**в,г**) – квадрупольним, (**д,е**) – октупольним [4].

Знайшовши переріз розсіяння світла окремою НЧ, можна знайти коефіцієнт поглинання нанокompозиту, що містить НЧ з концентрацією  $n$ :

$$K = \sigma_{abs} n = \sigma_{abs} \frac{N}{V} = \frac{3\omega}{c} \varepsilon_m^{\frac{1}{2}} f \operatorname{Im} \left( \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + 2\varepsilon_m} \right) = \frac{9f \varepsilon_m^{\frac{3}{2}}}{c} \frac{\omega \varepsilon_2}{(\varepsilon_1 + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon_2^2}, \quad (1.18)$$

де  $f = \frac{V_0}{V}$  – об’ємний фактор заповнення композиту наночастинками,  $V$  – об’єм всього нанокompозиту,  $V_0$  – об’єм який займають НЧ.

Очевидно, що при мінімальному значенні знаменника отримаємо максимум поглинання. У плазмоніці здебільшого застосовуються метали у яких згасання плазмових коливань електронів є слабким, а отже виконується умова  $\varepsilon_2 \ll |\varepsilon_1 + 2\varepsilon_m|$ . Тоді знехтувавши другим доданком знаменника, отримаємо умову дипольного плазмонного резонансу:

$$\varepsilon_1 = -2\varepsilon_m. \quad (1.19)$$

У загальному, для частинок, розміри яких малі порівняно з довжиною світлової хвилі для мод вищого порядку можна отримати умову збудження поверхневого плазмонного резонансу:

$$\varepsilon_1 = -\varepsilon_m \frac{n+1}{n}. \quad (1.20)$$

Тут  $n = 1$  відповідає дипольній плазмонній моді,  $n = 2$  – квадрупольній,  $n = 3$  – октупольній, і т.д.

Для різних мультиполів поля плазмонної НЧ залежність напруженості електричного поля від відстані до центру частинки  $R$  має вигляд

$$E(R) \sim \left( \frac{r}{R} \right)^{2n+1}, \quad (1.21)$$

а отже найбільш далекодіючою є дипольна мода.

Діелектрична проникність металевої НЧ залежить від частоти збуджуючого світла:

$$\varepsilon = \varepsilon(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega). \quad (1.22)$$

Її можна подати у вигляді

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_b(\omega) + \varepsilon_f(\omega), \quad (1.23)$$

де  $\varepsilon_b(\omega)$  – внесок зв'язаних електронів в діелектричну проникність, а  $\varepsilon_f(\omega)$  – внесок вільних електронів. Внесок зв'язаних електронів (внесок міжзонних переходів) можна записати у вигляді

$$\varepsilon_b(\omega) = \varepsilon_{b1}(\omega) + i\varepsilon_{b2}(\omega). \quad (1.24)$$

У той же час, згідно з теорією Друде, внесок вільних електронів:

$$\varepsilon_f(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega}, \quad (1.25)$$

де  $\omega_p$  – частота об'ємного плазмона,  $\gamma$  – стала загасання плазмових коливань.

Виокремивши дійсну частину діелектричної проникності частинки

$$\varepsilon_1(\omega) = \varepsilon_{b1}(\omega) + 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + \gamma^2} \quad (1.26)$$

і підставивши її в умову збудження дипольного плазмонного резонансу (1.19), отримаємо

$$\varepsilon_{b1}(\omega) + 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + \gamma^2} = -2\varepsilon_m. \quad (1.27)$$

Відповідно, частота, на якій виконується ця умова, називається частотою дипольного поверхневого плазмонного резонансу (позначимо її  $\omega_{sp}$ ):

$$\omega_{sp} = \sqrt{\frac{\omega_p^2}{1 + 2\varepsilon_m + \varepsilon_{b1}(\omega_{sp})} - \gamma^2}. \quad (1.28)$$

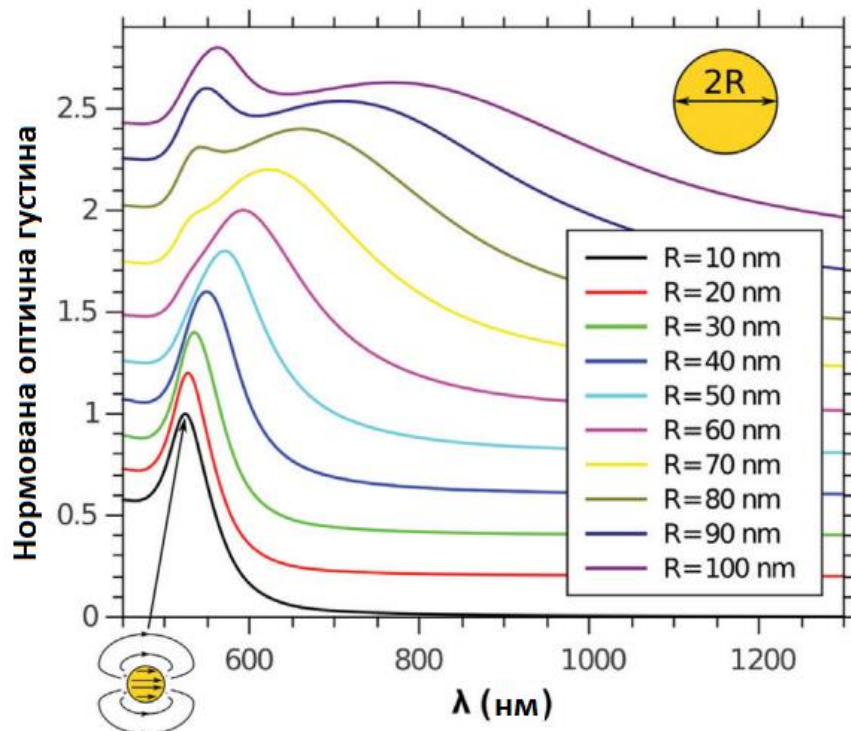
Цей вираз можна спростити, врахувавши що для плазмонних благородних металів загасання плазмових коливань є малим, а отже добре виконується умова  $\gamma \ll \omega_p$ . Отже, за умови слабого загасання отримаємо:

$$\omega_{sp} = \frac{\omega_p}{\sqrt{1 + 2\varepsilon_m + \varepsilon_{b1}(\omega_{sp})}}. \quad (1.29)$$

Іншою умовою, яка зазвичай добре виконується для плазмонних металів на частоті дипольного поверхневого плазмонного резонансу, є слабкий внесок міжзонних переходів:  $\varepsilon_{b1}(\omega_{sp}) \ll 1 + 2\varepsilon_m$ . Тоді нарешті отримаємо:

$$\omega_{sp} = \frac{\omega_p}{\sqrt{1 + 2\varepsilon_m}}. \quad (1.30)$$

Важливим частинним випадком є НЧ у вакуумі або повітрі ( $\varepsilon_m = 1$ ), тоді  $\omega_{sp} = \frac{\omega_p}{\sqrt{3}}$ . Бачимо, що частота дипольного поверхневого плазмонного резонансу залежить не лише від властивостей матеріалу НЧ ( $\omega_{sp}$  і  $\gamma$ ), але й від характеристик матриці, в якій знаходиться частинка ( $\varepsilon_m$ ). Ця залежність частоти поверхневого плазмонного резонансу від діелектричної проникності матриці, в якій знаходиться частинка, дозволяє використовувати плазмонні наноструктури (зокрема і металеві наночастинки) для сенсорики, і є фізичною основою плазмонних сенсорів, які вже знайшли своє застосування у фізиці, хімії, біології, медицині та інших галузях.



**Рис. 1.2.** Спектри екстинкції сферичної золотої НЧ у воді, розраховані на основі теорії Мі [6].

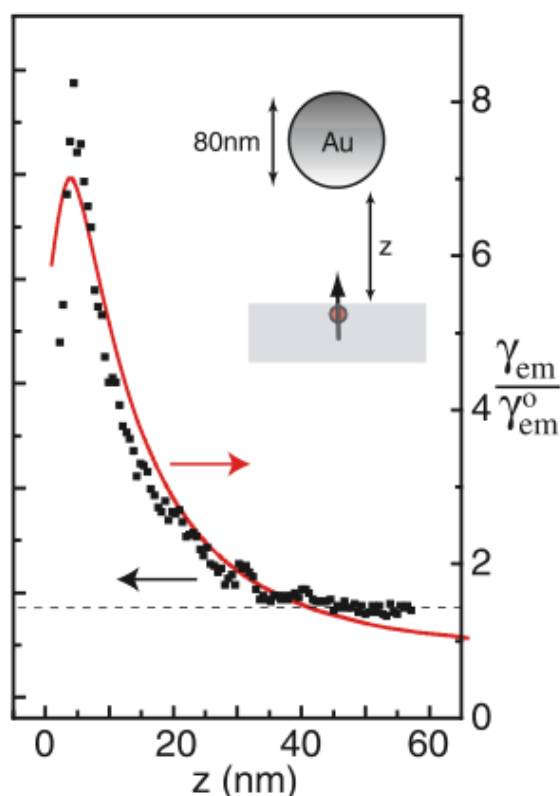
Експериментально також спостерігається немонотонна залежність характеристик поверхневого плазмонного резонансу, наприклад його частоти та півширини, від розмірів плазмонних наночастинок. Така залежність має складну природу, і зазвичай є наслідком впливу різних фізичних процесів.

## **1.2 Явище плазмонного підсилення оптичних процесів**

Відомо, що при збудженні світлом в металевих наночастинках поверхневих плазмонів, які є власними модами електронних коливань цих НЧ, поблизу таких частинок відбувається значний просторовий перерозподіл електромагнітного поля – зокрема помітне підсилення амплітуди поля в околі частинки. Відповідно, це призводить до збільшення інтенсивності протікання різноманітних лінійних та нелінійних оптичних процесів в люмінофорах, що розташовані в таких областях підсиленого поля. Зокрема, спостерігається збільшення імовірності вимушеного випромінювання, що призводить до збільшення інтенсивності ФЛ, однак також відбувається значне підсилення комбінаційного розсіяння світла, поглинання світла, генерації 2-ї гармоніки та ряду інших процесів. Явище підсилення оптичних процесів внаслідок збільшення інтенсивності локального поля поблизу поверхонь металевих наночастинок, у яких збуджуються поверхневі плаزمони, є фізичною основою цілого ряду експериментальних методик, які в загальному називають методами спектроскопії поверхневого підсилення, серед яких поверхнево підсилена Раманівська спектроскопія (SERS – surface enhanced Raman scattering), поверхнево підсилене поглинання (SEA), поверхнево підсилена фотолюмінесценція (SEPL) та спектроскопія окремих частинок.

Розглянемо процес плазмонного підсилення фотолюмінесценції. Підсилене завдяки резонансній взаємодії з поверхневими плазмонними модами електромагнітне поле поблизу поверхні металевої наночастинок призводить не лише до збільшення імовірності вимушених переходів в флюорофорі – поглинальних та випромінювальних. Процеси плазмонного підсилення можна досить точно контролювати, змінюючи відстань між

молекулою та металевою НЧ, а також розмір та геометрію НЧ. Однак варто мати на увазі, що хоча коефіцієнт підсилення електромагнітного поля монотонно зростає з наближенням до поверхні НЧ, при прямому контакті молекули флюорофору з поверхнею металу або при дуже малій відстані між ними починають переважати процеси безвипромінювальної релаксації електронних збуджень флюорофору, здебільшого завдяки значному збільшенню інтенсивності протікання безвипромінювальних процесів передачі енергії до металевої частинки, зокрема явища FRET. У роботі [7] було виконано детальне експериментальне дослідження залежності підсилення та гасіння випромінювання флюоресціюючої молекули від відстані до сферичної золотої наночастинки. В цій роботі було показано, що експериментальна залежність інтенсивності випромінювання флюорофору від відстані до частинки добре узгоджується з теоретично передбаченою залежністю, обидві з яких зображено на рис. 1.3.



**Рис. 1.3.** Залежність коефіцієнта підсилення інтенсивності фотолюмінесценції молекули від відстані до сферичної НЧ Au: експеримент (квадрати) та теорія (червона лінія) [7].

Коефіцієнт підсилення фотолюмінесценції можна записати як [9]

$$F = L^2(\omega_{exc})L^2(\omega_{pl})Q \quad (1.31)$$

де  $L(\omega_{exc})$  та  $L(\omega_{pl})$  – коефіцієнти підсилення плазмонного поля на частотах збуджуючого та випроміненого фотона відповідно;  $Q$  – нормований квантовий вихід фотолюмінесценції (ФЛ), який виражається як

$$Q = \frac{\gamma_r}{\gamma + \frac{1 - \eta_i}{\eta_i}} \frac{\gamma_0 + \frac{1 - \eta_i}{\eta_i}}{\gamma_{r0}}. \quad (1.32)$$

Тут  $\gamma = \gamma_r + \gamma_{nr}$  – загальна швидкість релаксації збудження в молекулі, де  $\gamma_r$  та  $\gamma_{nr}$  – швидкості радіаційної та нерадіаційної релаксації випромінювача відповідно,  $\eta_i$  – власний квантовий вихід ФЛ вільного випромінювача, а  $\gamma_0$  та  $\gamma$  – загальні швидкості релаксації вільного випромінювача та випромінювача, розташованого в плазмонному полі. Відомо [10, 11], що у випадку, коли випромінювач розташований поблизу металевої наночастинки, ймовірність нерадіаційного розпаду збудження випромінювача сильно зростає через резонансну передачу енергії від емітера до металевої наночастинки [12]. Це явище призводить до гасіння ФЛ. Отже зі співвідношень (1.31) та (1.32) видно, що для флюорофорів, розташованих поряд з плазмонною металевою наночастинкою може постерігатися не лише збільшення інтенсивності фотолюмінесценції, але й її гасіння, адже зменшення відстані між випромінювачем та металевою наночастинкою викликає збільшення швидкості нерадіаційної релаксації  $\gamma_{nr}$ , яке призводить до зменшення квантового виходу фотолюмінесценції. В той же час, зменшення відстані призводить до збільшення коефіцієнта підсилення плазмонного поля. В результаті існує немонотонна залежність нормованого квантового виходу  $Q$  і, відповідно, коефіцієнта підсилення ФЛ від відстані між емітером та наночастинкою [7].

За своїм фізичним принципом фотодинамічний ефект близький до одного з видів фотолюмінесценції, а саме фосфоресценції – значно затриманого в часі світлового випромінювання, яке відбувається, коли

флюорофор зі збудженого світлом синглетного стану безвипромінювально переходить на енергетично нижчий триплетний збуджений стан, після чого зі значною часовою затримкою, пов'язаною з заборонаю такого переходу, релаксує до незбудженого синглетного стану з випроміненням фотона. У випадку фотодинамічного ефекту відповідне триплетне збудження не скидається випромінювання фотона молекулою флюорофора-фотосенсибілізатора, а безвипромінювально передається сусіднім молекулам кисню, що призводить до генерації хімічно активних форм кисню. Таким чином, часто плазмонне підсилення фотолюмінесценції вказує також на плазмонне підсилення фотодинамічного ефекту, тобто фотогенерації активних форм кисню. Так, були проведені дослідження з бенгальським рожевим (3',4',5',6'-тетрахлор-2,4,5,7-тетрайодфлуоресцеїн), які показали збільшення його поглинальних властивостей поблизу поверхні срібної плівки, що призводить до відповідного збільшення синглетного та триплетного випромінювання [8]. Також було зафіксовано збільшення ефективності генерації синглетного кисню в таких системах, що підтверджує можливість плазмонного підсилення генерації активних форм кисню фотосенсибілізаторами [8].

### **1.3 Плазмон-екситонна взаємодія в наносистемах “наночастинка металу – флюорофор”**

Екситони – квазічастинки, кванти електронних збуджень в твердих тілах. Вперше вони були досліджені в 30-х роках ХХ століття в роботах Френкеля [13], Ванье [14] та Мотта [15]. Екситони поділяються на два види залежно від їхнього радіусу. Екситони Френкеля, або екситони малого радіуса, мають розмір порядку розміру вузла кристалічної ґратки. Вони існують в органічних молекулярних кристалах та агрегатах барвників або полімерів, визначаючи оптичні властивості таких систем. Екситони Ванье-Мотта, або ж екситони великого радіуса, мають розміри, що зазвичай становлять кілька сталих ґратки кристала. Вони існують в неорганічних

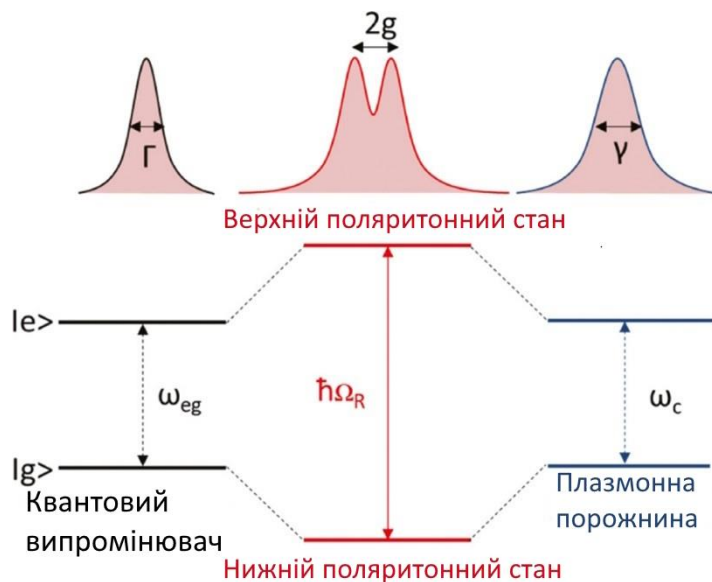
напівпровідниках. Екситони Ваньє-Мотта являють собою зв'язані кулонівською взаємодією електрон-діркові пари.

Плазмони та екситони є електронними квазічастинками-збудженнями, які існують в матеріалах різного типу, а саме в металах та напівпровідниках. При цьому, у гібридних системах, що містять металеві та напівпровідникові компоненти, ці електронні квазічастинки можуть взаємодіяти між собою, що призводитиме до гібридизації плазмонних і екситонних станів, наслідком чого є виникнення квазічастинок нового типу – плекситонів [16]. Класичними прикладами плекситонних систем є, наприклад, системи, які складаються з шару органічних молекул, нанесених на плазмонну наноструктуру, наприклад на 2D-шар наночастинок Ag або Au. Прикладами плекситонних систем також є окремі плазмонні наночастинки, або їх масиви на поверхні 2D-напівпровідника (наприклад MoS<sub>2</sub>); упорядковані системи з квантових точок та металевих НЧ, котрі чергуються через певні відстані одна від одної; різного роду флюорофори (органічні та неорганічні) в плазмонних металевих нанопорожнинах.

Необхідною умовою взаємодії між плазмоном та екситоном є близькість частот поверхневого плазмонного резонансу плазмонних наноструктур з частотами екситонних збуджень в напівпровідниках на зразок агрегатів молекул молекулярних барвників, напівпровідникових квантових точок або напівпровідникових 2D-систем.

Плазмон-екситонні гібридні наносистеми класифікуються за силою плазмон-екситонної взаємодії. Відповідно, кажуть про режими сильної та слабкої взаємодії. У випадку сильної взаємодії відбувається суттєва якісна зміна енергетичного спектру системи, що призводить до утворення двох різних гібридних станів з різними енергіями та властивостями – плекситонів [17]. Таке явище розщеплення енергетичних рівнів системи називається розщепленням Рабі. За умови слабкої плазмон-екситонної взаємодії, система може бути описана як суперпозиція двох систем, між якими існує перенесення енергії, що не супроводжується якісною перебудовою енергетичного спектру.

В цьому випадку спостерігається підсилення поглинання або випромінювання, але зі збереженням індивідуальних спектральних характеристик компонент системи. Отже, зробити висновок про силу взаємодії в системі можна дослідивши її спектральні характеристики.



**Рис. 1.4.** Схематичне зображення взаємодії між квантовою точкою та електромагнітним полем у плазмонній порожнині, яке призводить до виникнення двох нових гібридних станів [18].

Сила плазмон-екситонної взаємодії залежить від кількох факторів, зокрема просторового перекриття плазмонного та екситонного поля (наприклад відстані між НЧ металу та напівпровідниковою КТ), спектрального перекриття їхніх енергетичних спектрів та величини дипольного моменту екситона [18].

Розглянемо випадок слабкої взаємодії дещо детальніше. В цьому випадку, хвильові функції плазмона та екситона не змінюються в результаті взаємного впливу, однак оптичні властивості системи можуть змінюватись. Наприклад можуть спостерігатися зміна поляризації ФЛ, зростання або спадання її інтенсивності, зміна швидкості безвипромінювального загасання збудження, тощо. В загальному, явище плазмонного підсилення

фотолюмінесценції екситонних систем підпадає під цю класифікацію, і було розглянуто в попередньому розділі.

Існує ряд систем, в яких експериментально спостерігається явище сильної плазмон-екситонної взаємодії [19]. Наприклад, утворення плекситонів було зафіксовано в системах, які складаються з металевої плазмонної наноструктури та 2D-частинок дихалькогенідів перехідних металів. Було показано, що таким системам притаманна сильна плазмон-екситонна взаємодія навіть за кімнатної температури, що пов'язано з характеристиками екситонів в таких системах. Одно- та кілька-шарові дихалькогеніди перехідних металів мають велику силу осцилятора та енергію зв'язку екситонів (0.3-0.5 eV), а також низький рівень екранування заряду, що потенційно може призводити до інтенсивного обміну енергією між таким 2D-матеріалом та плазмонною наноструктурою.

Наприклад, в роботі [20] в системі, котра складається з одношарового  $WS_2$ , нанесеного на плазмонну метаповерхню, при кімнатній температурі було зафіксовано розщеплення Рабі величиною  $\sim 200$  меВ. За допомогою методів літографії, автори створили поверхню, на якій на визначеній відстані один від одного знаходяться металеві наноциліндри певного діаметру. Змінюючи діаметр циліндрів та відстань між ними, можна контрольовано змінювати інтенсивність плазмон-екситонної взаємодії. Автори вважають, що високий коефіцієнт відбивання одношарового  $WS_2$  дозволяє підвищити ступінь просторової локалізації поверхневої електромагнітної хвилі, що також дозволяє підсилити плазмон-екситонну взаємодію. Для такої системи у спектрах ФЛ було виявлено розщеплення Рабі, що свідчить про гібридизацію плазмонних та екситонних мод, яка призводить до виникнення плекситонів.

Іншою системою, в якій було зафіксовано сильну плазмон-екситонну взаємодію за кімнатної температури, була система, яка являє собою золоту нанопризму, відділену від золотої плівки шаром діелектрика товщиною кілька нанометрів. Змінюючи товщину діелектрика, автори могли досить точно контролювати частоту ППП в проміжку між плівкою та нанопризмою, що

дозволило досягти максимального спектрального перекриття ППР та екситона в одношаровому  $WS_2$ , який було поміщено в діелектрик. Для такої системи було зафіксовано сильне розщеплення Рабі величиною 163 меВ [21].

Одним з прикладів імовірного застосування плекситонних систем, запропонованим в роботі [22], є використання таких систем для вимірювання відстаней у наномасштабі, створивши плекситонну «лінійку». На даний момент, в якості таких «лінійок» для вимірювання відстаней на наномасштабі вже були запропоновані плазмонні та екситонні системи окремо, однак вони мають свої недоліки. Наприклад, системи засновані на фьорстерівському перенесенні енергії, застосовуються для дослідження взаємодії клітин з речовиною, довжин та гнучкості полімерів та біомолекул, тощо, і дають можливість спостерігати навіть за малими змінами в системі за змінами спектрів фотолюмінесценції. Однак мінусом такої системи є дуже сильна локалізованість фьорстерівського перенесення енергії (інтенсивність взаємодії пропорційна  $R^{-6}$ ), що на практиці обмежує вимірювані відстані максимум до 10 нм. У плазмонних нанолінійках для вимірювання відстані використовуються дві плазмонні металеві НЧ. При взаємодії поверхневих плазмонів цих НЧ спостерігається помітний червоний зсув поверхневого плазмонного резонансу. Сила взаємодії між НЧ залежить від відстані між ними як  $R^{-3}$ , а отже є більш далекодіючою ніж фьорстерівське перенесення енергії. Такі пари НЧ були застосовані для вимірювання відстаней більше 10 нм, наприклад під час розщеплення ДНК. Відповідно, у роботі [22] було продемонстровано можливість створення сильно взаємодіючої плазмон-екситонної пари з НЧ срібла та мономерного барвника, зі спостереженням розщеплення Рабі навіть попри спектральну різницю 30 нм між піками ППР та екситона. Було показано, що енергія плазмон-екситонної взаємодії сильно залежить від відстані між компонентами системи, і сильний режим плазмон-екситонної взаємодії зберігається на відстанях більше 10 нм, і ймовірно до десятків нанометрів, та показано принципову можливість використання такої системи для вимірювання відстаней на наномасштабі.

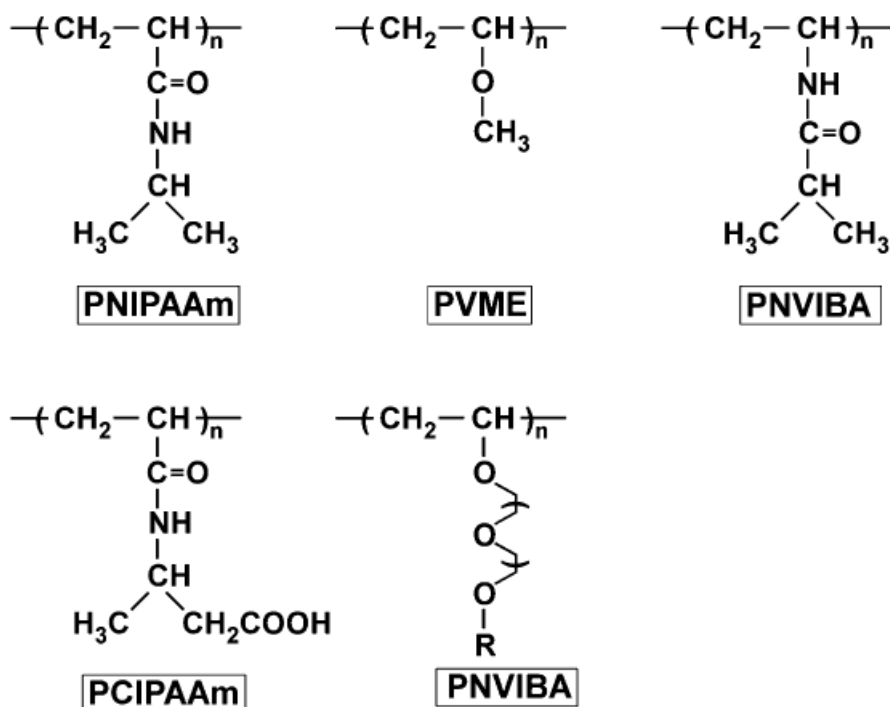
## 1.4 Термочутливі полімери як платформа для застосувань у фотоніці, біології та медицині

Полімерами називають матеріали, які являють собою дуже великі молекули (макромолекули), які складаються з послідовності менших повторюваних груп атомів, котрі називають мономерними ланками (мономерами). Полімери є широким класом речовин з дуже широким спектром властивостей. Як природні, так і штучні полімери давно знайшли застосування не лише в науці та технологіях, але й у повсякденному житті.

Термочутливі полімери, в свою чергу, являють собою клас новітніх матеріалів, котрим притаманно змінювати свої фізико-хімічні властивості, зокрема розчинність у воді, під впливом температурних змін. Існує два основні види термочутливих полімерів, класифікованих за видами термоіндукованих змін [23]. Перший, найбільш поширений і досліджений, це полімери з нижньою критичною температурою розчину (Lower Critical Solution Temperature, LCST). Другий клас полімерів, відповідно, це полімери з верхньою критичною температурою розчину (Upper Critical Solution Temperature, UCST). LCST та UCST полімери мають критичні температурні точки, відповідно, нижче і вище яких такі полімери є повністю розчинними. Отже, LCST полімер нижче температури фазового LCST переходу є гідрофільним, а тому його розчин є прозорим та однорідним. При перевищенні критичної температури полімер стає гідрофобним, а тому розчин різко мутніє. Відповідно, температурна поведінка UCST полімерів є протилежною. Зазвичай така зміна фізичних властивостей полімерів при зміні температури є повністю оборотною. Такі зміни викликають чималий інтерес у дослідників, які працюють в області біології і медицини, оскільки термочутливі полімери потенційно здатні здійснювати температурні переходи всередині тіла людини.

Більшість наукових робіт за цією темою присвячені дослідженню саме LCST полімерів, найбільш популярним та дослідженим серед яких є полі(N-ізопропілакриламід) – PNIPAM або PNIPAAm. У водному розчині PNIPAM має температуру LCST переходу близько 32 °C, що близько до температури

людського тіла, через що він вважається перспективним для біомедичних застосувань. Зміна розчинності цього полімера пояснюється оборотною гідратацією/дегідратацією полімера завдяки ізопропіловим ланцюгам [24]. Шляхом кополімеризації N-ізопропілакриламід з іншими речовинами, можна у певних межах контролювати температуру LCST переходу результуючого полімера, зменшуючи або збільшуючи її, що наближає фазовий перехід у такому термочутливому полімері до температури людського тіла. Зокрема, додавання у PNIPAM карбоксильних або аміно фрагментів призводить до підвищення критичної температури, однак зазвичай робить сам процес LCST повільнішим. Так, наприклад, у роботі [25] N-ізопропілакриламід був кополімеризований з акриловою кислотою, і для деяких зразків, залежно від молярної частки акрилової кислоти, для рН 7.4 були спостережені LCST переходи при температурах вище 32 °С, однак вони були не такими різкими, а відбувались досить повільно на проміжку в кілька градусів.



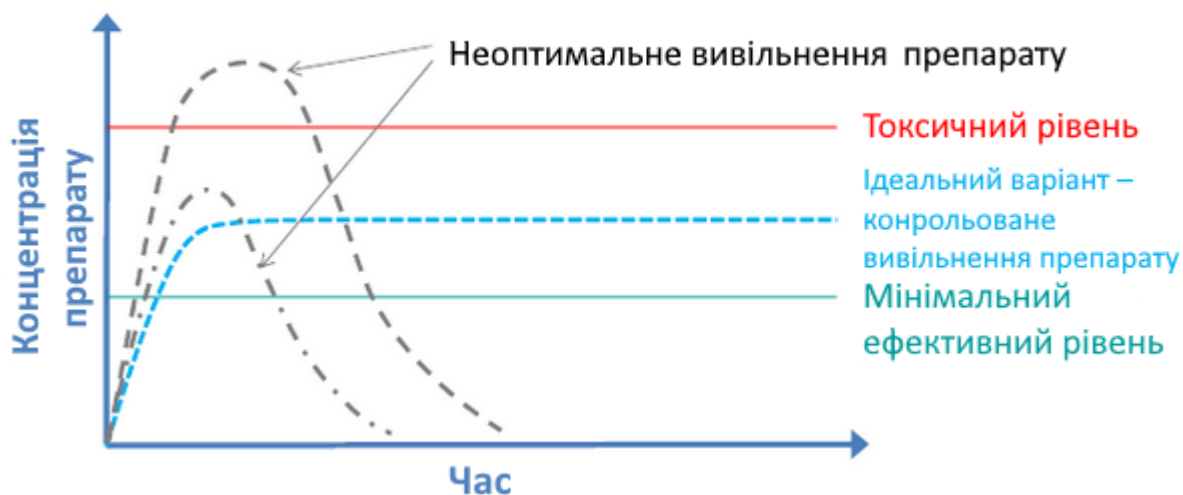
**Рис. 1.5.** Приклади термочутливих полімерів, яким притаманний LCST перехід.

У роботі [26] були досліджені змішані (статистичні) полімери, що складаються з N-вінілізобутирамідів та N-вінілформамідів. Для них, залежно від відносної долі компонентів, були отримані температури LCST переходу від 40 до 70 °C, при цьому зі збільшенням температури початку переходу спостерігалось зменшення його різкості.

Іншим цікавим класом термочутливих полімерів є полі(2-оксазолін)и [27]. Вони можуть досить просто полімеризуватися з іншими речовинами, надаючи дослідникам доступ до широкого ряду полімерних сполук з чітко визначеними характеристиками. До того ж, властивості поліоксазолінів можна подальшим чином змінювати, змінюючи бокову ланку мономера 2-оксазолін. Для значної кількості полімерів на основі 2-оксазоліну було помічено хороший показник цитосумісності, що робить такі системи перспективними для біомедичних застосувань. Іншою властивістю таких полімерів є їхня хімічна стабільність, що відкриває можливості їхніх застосувань як покриттів для сенсорів та імплантів.

Одним із найбільш обговорюваних медичних застосувань таких полімерів є перспектива їхнього використання як системи точкової доставки медичних препаратів всередину організму [23]. Для ефективності медичних препаратів ключовим є те, що ліки мають бути доставлені у правильне місце, у правильний час та в правильній концентрації. Однак існує багато перспективних медичних препаратів, які не можуть бути ефективно застосованими через низьку розчинність, швидку деградацію в організмі людини або швидке виведення з нього, неспецифічну токсичність або труднощі з подоланням біологічних бар'єрів. Для подолання цих недоліків пропонуються наносистеми для доставки ліків, зокрема такі, які базуються на полімерах. Однак, хоча використання звичайних полімерів дозволяє подолати деякі з цих проблем, питання точної доставки ліків до цілі та підтримання там оптимальної концентрації медичного препарату все одно є нетривіальними. Цю проблему можуть допомогти вирішити «розумні» полімери, здатні змінювати свої властивості під впливом зовнішніх чинників, зокрема й

температури. Наприклад, полімерні ланцюги можуть розкриватись при підвищенні температури, дозволяючи лікам вийти з полімерного носія і почати свою дію.



**Рис. 1.6.** Схематичне пояснення перспективності використання термочутливих полімерів як носіїв лікарських препаратів [23].

#### 1.4 Фотодинамічний ефект та його використання в медицині

Світло використовувалося для лікування різноманітних захворювань ще з античних часів. Найбільш ранні згадки про фототерапію, яка тоді була відома як геліотерапія, відносяться ще до стародавніх цивілізацій Єгипту, Індії та Китаю, котрі використовували сонячне світло для лікування різних шкірних захворювань, таких як псоріаз, вітиліго та рак шкіри. Гіпократ, “батько сучасної медицини”, поширював вчення про геліотерапію (використання сонця для лікування) і наголошував на важливості сонячного опромінення всього тіла для відновлення здоров'я [28]. У XVIII і XIX століттях у Франції сонячне світло використовувалося для лікування ряду захворювань, наприклад туберкульозу, рахіту, цинги, ревматизму, паралічу, набряку і м'язової слабкості [29].

На початку XX століття важливість світла в лікуванні хвороб було визнано, і у 1903 році Нобелівська премія з фізіології та медицини була присуджена Нільсу Фінсену за його внесок у цю область та “відкриття нового

напрямку розвитку медичної науки”. Фінсен виявив, що сонячне світло або світло від дугової лампи з графітовими електродами і з тепловим фільтром можна використовувати для лікування туберкульозного вовчака, важкого шкірного захворювання, викликаного туберкульозом. Саме це відкриття і вважається початком сучасної фототерапії [30].

Фотодинамічна терапія – це метод лікування різноманітних захворювань, який базується на збудженні світлом певної речовини – фотосенсибілізатора, котрий під дією світлового випромінювання призводить до проходження фотохімічних реакцій перетворення триплетного молекулярного кисню на синглетний кисень або виникнення великої кількості високоактивних кисневмісних вільних радикалів.

Вперше явище фотодинамічної терапії було відкрите в 1900 році Оскаром Раабом, студентом-медиком, який працював під керівництвом Германа фон Таппайнера над дослідженням токсичності акридинових барвників для найпростіших. Було виявлено, що вона залежить від інтенсивності сонячних променів, що потрапляли на зразки. Через кілька років після цього, в 1903 р. були здійснені перші спроби лікування пухлин за допомогою фотодинамічної терапії шляхом нанесення 1% розчину еозину на шкіру пацієнтів з карциномою [31], після чого оброблені ділянки піддавались освітленню дуговою лампою або сонячним світлом. Вже наступного року групою Таппайнера було показано, що для такого ефекту необхідна одночасна присутність фотосенсибілізатора, світла й кисню, та вперше використано термін “фотодинамічний ефект” [31].

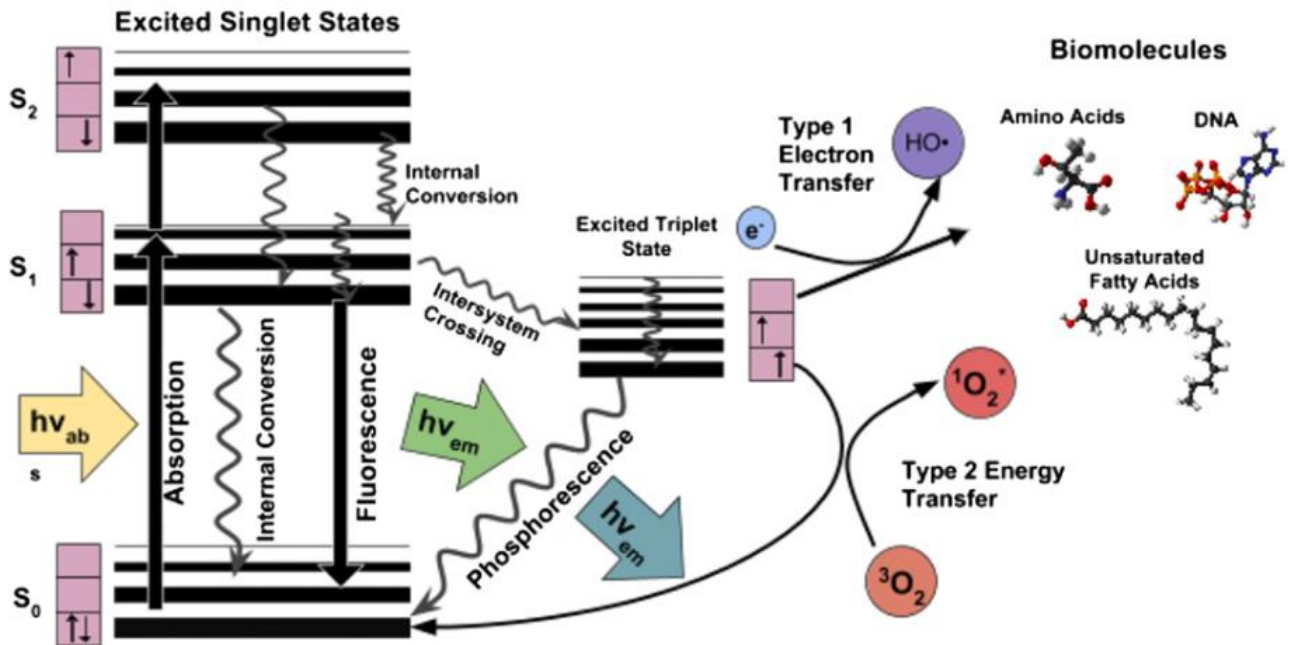
Дослідження в цій області продовжувались, наприклад, було зафіксовано накопичення гематопорфіну в злоякісній пухлині [31]. В 1975 р. Томасом Дугерті було показано, що введення фотосенсибілізатора на основі гематопорфіну та його подальша активація червоним світлом призводить до повного знищення пухлин в лабораторних мишей [32]. Перше масштабне застосування фотодинамічної терапії на людях було здійснено лише в 1978 р. Томасом Дугерті, де вона була використана на 25 пацієнтах для лікування 113

різноманітних шкірних утворень різного роду, на які не подіяла хіміотерапія та радіотерапія [33]. Саме це тестування й започаткувало сучасну історію використання фотодинамічної терапії, яка продовжувала вдосконалюватися з того часу. Варто зазначити, що хоча найбільш широко фотодинамічна терапія застосовується саме для лікування різноманітних злоякісних утворень, коло її теперішніх, а тим паче потенційних застосувань, є значно ширшим. Так фотодинамічна терапія може досить ефективно знищувати будь-який тип патогенних мікроорганізмів: бактерій, вірусів, грибків та паразитів, наприклад Лейшманію (*Leishmania*).

Принцип дії фотодинамічної терапії зображено на Рис. 1.7 за допомогою діаграми Яблонського. Так, електрони з найнижчого синглетного рівня молекули фотосенсибілізатора шляхом поглинання збуджуючого фотона переходять на вищий короткоживучий синглетний рівень, зберігаючи при цьому свій напрямок спіну. Існує певна імовірність, що з такого стану електрон перейде не в нижчий синглетний стан з випромінюванням фотона або перетворення надлишкової енергії на теплову, а що в результаті інтеркомбінаційної конверсії він перейде в довгоживучий триплетний стан. Далі, окрім звичайних методів деактивації збудження можуть відбутися реакції, відомі як реакції 1-го роду або реакції 2-го роду.

У випадку реакції 1-го роду, фотосенсибілізатор в збудженому триплетному стані може отримати ще один електрон ззовні, ставши при цьому аніон-радикалом. Всередині клітини відновниками, котрі надають фотосенсибілізатору електрон, є нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД) або нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ). У випадку, якщо джерелом отриманого електрона є інший триплетно-збуджений фотосенсибілізатор, в результаті утвориться пара з аніон-радикалу та катіон-радикалу. Такі вільні радикали можуть надалі провзаємодіяти з киснем, внаслідок чого можуть утворитись його більш активні види, наприклад супероксидний аніон. І хоча безпосередній окислювальний ефект таких видів кисню відносно невеликий, при взаємодії між собою та з оточуючим середовищем вони можуть

призводити до утворення ряду більш агресивних сполук, наприклад перекису водню, призводячи до свого роду окисних “ланцюгових реакцій”, що часто трапляється у випадку окислення жирних кислот та інших ліпідів.



**Рис. 1.7.** Діаграма Яблонського для процесів, що відбуваються при оптичному збудженні фотосенсибілізатора, та можливі хімічні реакції, які використовуються при фотодинамічній терапії.

У випадку реакції 2-го роду, фотосенсибілізатор з триплетним збудженням може передати свою енергію безпосередньо молекулярному кисню, основний стан якого також є триплетним, що призводить до утворення збудженого синглетного кисню. Реакції 2-го роду найменш негативно впливають на молекулярну структуру фотосенсибілізатора, і одна молекула фотосенсибілізатора при реакціях 2-го роду може згенерувати до 10000 молекул синглетного кисню, що важливо для застосувань у медицині,

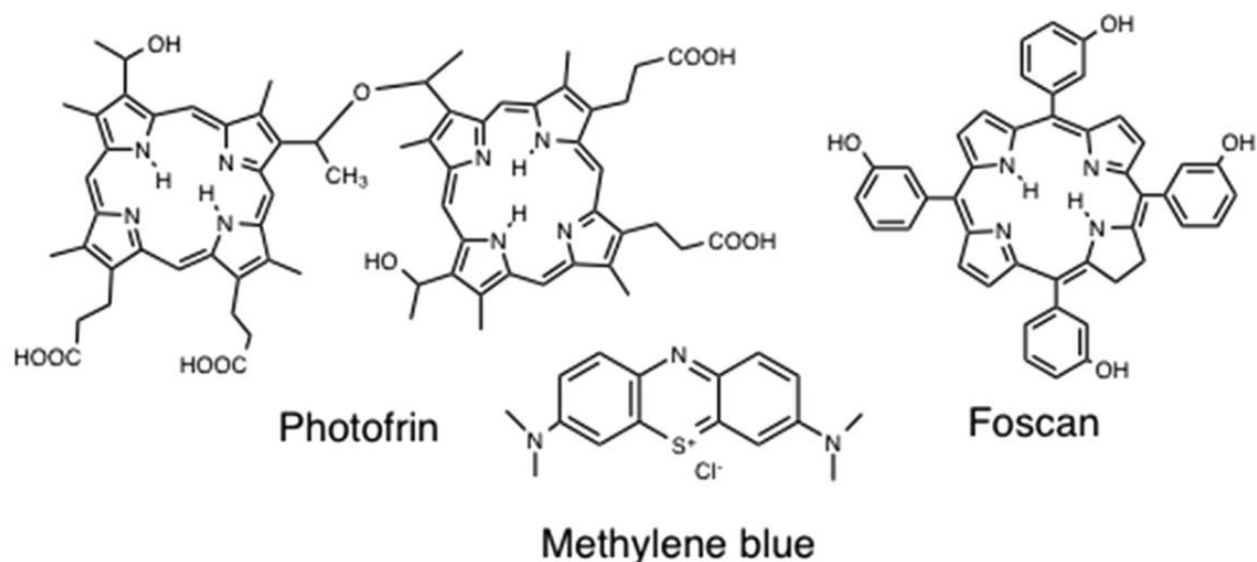
Вважається що саме синглетний кисень, утворений при фотохімічних реакціях 2-го роду, є джерелом більшої частини пошкоджень клітин, що стаються внаслідок фотодинамічної терапії [34, 35]. Однак через високу активність та короткий час життя синглетного кисню, фотодинамічна терапія,

що базується на реакції 2-го роду, є надзвичайно локалізованою: так, період піврозпаду синглетного кисню в біологічних системах оцінюється в трохи менше ніж 40нс з відповідним пробігом близько 20нм [36]. Синглетний кисень найбільш активно реагує з молекулами, що містять тіоли та подвійні зв'язки, а отже в цьому відношенні реакції 2-го роду також можуть діяти більш точково ніж реакції 1-го. Саме цей тип реакцій є найбільш широко застосовним.

Наразі відомо про три основні шляхи, якими фотодинамічна терапія сприяє знищенню пухлин. Перший, найбільш очевидний, полягає в тому що клітини пухлин безпосередньо знищуються активними формами кисню, котрі генерують молекули фотосенсибілізатору. Другий механізм полягає в тому, що не до кінця поглинутий пухлиною фотосенсибілізатор може руйнувати кровоносні судини пов'язані з пухлиною, що призводить до її смерті через нестачу кисню та інших необхідних речовин. І, нарешті, фотодинамічна терапія може призводити до підвищення імунної реакції на клітини пухлини.

Саме через необхідність відносно великої інтенсивності світла для фотодинамічної терапії та непрозорість тканин тіла в оптичному діапазоні найбільш розвинутою й активно застосовною на даний момент є фотодинамічна терапія шкіри та різноманітних внутрішніх порожнин куди можна передати світло за допомогою ендоскопа. На даний момент ведуться роботи зі спроб застосування для фотодинамічної терапії світла ІЧ діапазону, де знаходяться вікна прозорості людських тканин. Основними джерелами світла для фотодинамічної терапії є лазери та світлодіоди, які дозволяють отримати випромінювання досить вузького діапазону довжин хвиль, та люмінесцентні і газорозрядні лампи.

На даний момент відкрита велика кількість сполук, що можуть застосовуватись в якості фотосенсибілізаторів, деякі з яких наведено на рис. 1.8.



**Рис. 1.8.** Хімічна структура деяких фотосенсибілізаторів, що застосовуються клінічно: метиленовий синій, фотофрин та фоскан.

Після ряду успішних клінічних досліджень для лікування різних видів злоякісних утворень, в 1993 р. фотофрин (Photofrin®) було схвалено в Канаді для лікування раку сечового міхура. В 1995 р. його було дозволено для використання в США. Наразі його використання продовжується, і він доступний в Канаді, США, Японії та ряді європейських країн. Фотофрин вводиться внутрішньовенно, добре накопичується в пухлинах, і генерує синглетний кисень під збудженням світлом з довжиною хвиль 630 нм [36]. Важливим негативним ефектом є те, що він залишається в організмі до двох місяців, під час яких пацієнт є світлочутливим, і мусить уникати сонячних променів та іншого сильного світла [37]. Фотофрин відноситься до фотосенсибілізаторів першого покоління.

Гематопорфін та його похідні є фотосенсибілізаторами першого покоління. Більшість з них була розроблена у 70-х роках ХХ століття, і саме вони використовувались в ранніх клінічних випробування фотодинамічної терапії загалом. Вони піддаються різноманітним клінічним дослідженням та застосуванню на тисячах пацієнтів впродовж десятків років. Однак, незважаючи на їхню широку розповсюдженість, в цього покоління фотосенсибілізаторів є ряд проблем. Наприклад, вони є не лише

фототоксичними, але й демонструють певну темнову клітинну токсичність. Зазвичай їм притаманна низька хімічна чистота, і фотосенсибілізатори цього покоління можуть бути ефективно активованими світлом з довжиною хвилі нижчою за 640 нм, що зменшує можливу глибину проникнення світла в організм. Їм притаманна гідрофобність, що зменшує ефективність в організмі людини. До того ж, через тривалий час їх виведення й метаболізації в організмі, пацієнти залишаються чутливими до світла впродовж кількох тижнів.

Після перших багатообіцяючих випробувань фотодинамічної терапії, дослідники з усього світу почали працювати над створенням більш ефективних фотосенсибілізаторів. Результатом цього було створення в кінці 80-х років ХХ століття фотосенсибілізаторів другого покоління, призначених для того аби обійти проблеми ФС першого покоління. ФС другого покоління являють собою повністю синтетичні сполуки з ароматичними макроциклами, і включають в себе різноманітні класи сполук, такі як хлорини, порфірини, бактеріозлорини, фталоціаніни та бензопорфірини. Прикладами фотосенсибілізаторів другого покоління, які вже прийняті для клінічного застосування або зараз проходять клінічні дослідження є темопорфін (Foscan®), мотексафін лютецію (Lutex®), бактеріофеофорбід паладію (Tookad®), олов'яний етил етіопурпурин (Purlytin®), вертепорфін (Visudyne®), талапорфін (Laserphyrin®). В загальному, фотосенсибілізатори другого покоління добре збуджуються світлом з довжинами хвилі 650–800 нм, демонструючи нижчу темнову токсичність. Також ФС другого покоління виводяться з нормальних тканин швидше ніж ФС першого покоління, тож вони викликають менше побічних ефектів та не вимагають настільки довгого уникання пацієнтом інтенсивного світла. Однак серйозний недолік цих фотосенсибілізаторів полягає у їх поганій водорозчинності, що призводить до того що ФС другого покоління агрегують в умовах організму, що погіршує утворення ними активних форм кисню. Це також ускладнює внутрішньовенне введення таких ФС, і змушує шукати нові шляхи їх застосування.

Третє покоління фотосенсибілізаторів використовує вже існуючі ФС і модифікує їх, зазвичай складаючись з ФС другого покоління, модифікованого за допомогою специфічних сполук (наприклад за допомогою кон'югатів антитіл), або інкапсульованих в спеціальні носії для того, щоб підвищити накопичення в потрібній області. Часто застосовуються різноманітні наноносії молекул, наприклад наночастинки. Такі носії здебільшого використовуються з метою доставки ФС до клітин, що допомагає компенсувати погану водорозчинність ФС. Існують різноманітні молекулярні носії, що використовуються для збільшення ефективності ФС, наприклад ліпосоми, міцели, квантові точки, дендримери, полімери, магнітні, золоті наночастинки та різноманітні сполуки на основі карбону, такі як фулерени і вуглецеві нанотрубки. Метою таких носіїв є збільшення стабільності та водорозчинності фотосенсибілізаторів, що покращує їхні фармакокінетику, фармакодинаміку та біорозповсюдження *in vivo*, що допомагає зменшити небажані побічні ефекти та темнову токсичність.

Хоча лікування злоякісних утворень і є найбільш розповсюдженим способом застосування фотодинамічної терапії, і вона зазвичай пов'язується саме з цим своїм застосуванням, можливі використання фотодинамічної терапії не обмежуються лікуванням новоутворень. Одним з таких застосувань є антимікробна фотодинамічна терапія.

Наприкінці ХХ століття була виявлена принципова різниця в сприйнятливості до фотодинамічної терапії між грам-позитивними та грам-негативними бактеріями. Було виявлено, що в загальному нейтральні або аніонні молекули фотосенсибілізаторів ефективно зв'язуються та дозволяють деактивувати грам-позитивні бактерії після опромінення, тим часом як грам-негативні бактерії, в яких фотосенсибілізатор прив'язувався лише до їх зовнішньої мембрани, не деактивувались після опромінення [38]. Це було пояснено їхніми фізіологічними відмінностями, а саме структурними відмінностями їхніх клітинних стінок. Так цитоплазмична мембрана грам-позитивних бактерій характеризується товстим шаром пептидоглікану та

таліпотейхоїчної кислоти, що сприяє зв'язування молекул фотосенсибілізатора. Грам-негативні бактерії, в свою чергу, містять дуже тонкий шар пептидоглікану, і на додачу мають дві мембрани – зовнішню та внутрішню, розділені шаром цитоплазми.

Були запропоновані методи, що дозволили б застосування фотодинамічної терапії для боротьби з грам-негативними бактеріями, наприклад використання додаткових хімічних речовин, щоб підвищити їх сприйнятливість [38], або використання позитивно-заряджених фотосенсибілізаторів [39]. У деяких роботах також стверджувалося, що для ефективної боротьби з грам-негативними бактеріями за допомогою фотодинамічної терапії непотрібно проникати всередину бактерії або навіть контактувати з нею: достатньо просто згенерувати достатню кількість синглетного кисню, після чого він зможе дифундувати всередину бактерії [40].

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ НАНОСИСТЕМ

#### 2.1 Синтез досліджуваних гібридних наносистем та їхніх компонентів

##### 2.1.1 Синтез гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au

Спочатку було синтезовано зіркоподібний кополімер, що складається з декстранового ядра з молекулярною масою  $M_w = 7 \times 10^5$  г/моль та 15 прищеплених макромолекул PNIPAM. Молекулярні параметри синтезованого кополімеру такі: середньовагова молекулярна маса  $M_w = 1,03 \times 10^6$  г/моль; середньочислова молекулярна маса  $M_n = 6,7 \times 10^5$  г/моль; полідисперсність полімеру  $\bar{D} = 1,52$ ; гідродинамічний розмір  $D_h = 40$  нм. Деталі синтезу та структурних особливостей D-g-PNIPAM наведено в роботах [41, 42].

Відновлення іонів золота проводилося у водному розчині полімерної матриці D-g-PNIPAM з використанням водного розчину  $\text{HAuCl}_4$  як прекурсора. Процедури синтезу та характеристики водного розчину D-g-PNIPAM/НЧ Au детально обговорюються в роботах [41, 42]. Отримані зразки зберігалися за температури  $5^\circ\text{C}$  у темному місці. Концентрація наночастинок Au в отриманому розчині становить 0,086 г/л. Наносистема D-g-PNIPAM/НЧ Au готувалася в полімерному розчині з концентрацією, нижчою за концентрацію кросовера (режим Гінера), що призвело до того, що в досліджуваних зразках наносистема D-g-PNIPAM/НЧ Au існувала в розчині у вигляді окремих макромолекул [41, 43].

##### 2.1.2 Синтез гібридних наносистем D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Ag

Деталі синтезу та характеристики кополімеру детально описані в роботах [53]. Для синтезу вихідного кополімеру використовувався декстран з

молекулярною масою  $M_w = 1,7 \times 10^6$  г/моль (Fluka) та акриламід (Aldrich). Ініціатором радикальної полімеризації був церій(IV) амоній нітрат (Aldrich). Використовувався D-g-РАА із середньою молекулярною масою  $M_w = 1,7 \times 10^6$  г/моль та полідисперсністю  $M_w/M_n = 1,66$ .  $M_w$  декстранового ядра становила  $7 \times 10^6$  г/моль. Кількість місць прищеплення поліакриламідних ниток на декстрановий остов було попередньо визначено на основі молярного співвідношення іонів акриламіду до іонів церію, і дорівнювала 10.

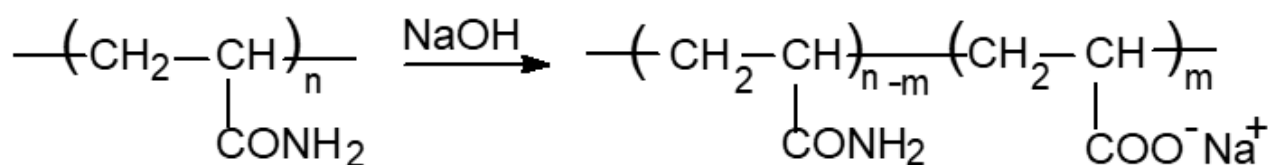
Наночастинки Au були синтезовані шляхом відновлення  $\text{HAuCl}_4$ , розчиненого в розчині полімеру D-g-РАА. 0,05 мл водного розчину  $\text{HAuCl}_4$  з концентрацією  $c = 0,1$  М змішувалася з 1 мл водного розчину полімеру D-g-РАА з концентрацією  $c = 1$  г/л та перемішувалася протягом 20 хвилин. Після цього додавався 0,1 мл водного розчину  $\text{NaBH}_4$  з концентрацією  $c = 0,1$  М. Отриманий розчин перемішувався впродовж 30 хвилин. Він набував рубіново-червоного кольору, що свідчить про утворення наночастинок золота (НЧ Au).

Гібридна наносистема D-g-РАА/НЧ Ag була приготована шляхом відновлення водного розчину прекурсора срібла  $\text{AgNO}_3$  в розчині полімеру D-g-РАА. До 0,9 мл вихідного розчину D-g-РАА було додано 0,1 мл водного розчину  $\text{AgNO}_3$  (0,01 М). Після 20 хвилин перемішування було додано 0,04 мл свіжоприготованого розчину  $\text{NaBH}_4$  (0,01 М) одночасно і суміш перемішувалася ще 20 хвилин. Розчин став помаранчевим, що свідчить про утворення наночастинок срібла (НЧ Ag).

### 2.1.3 Синтез гібридної наносистеми D-g-РААan/НЧ Au

Аніонна форма кополімеру D-g-РАА (далі позначатиметься як D-g-РААan) була отримана шляхом лужного гідролізу вихідного кополімеру D-g-РАА впродовж 30 хвилин з використанням 0,25 М NaOH. Лужний гідроліз призводить до перетворення груп  $-\text{CONH}_2$  ланцюгів РАА на групи  $-\text{COONa}$ , як показано на рис. 2.1. Кількість карбоксильованих груп у макромолекулах модифікованого кополімеру була визначена за допомогою потенціометричного титрування, і ступінь гідролізу дорівнював 37%. Було

доведено, що вибрані умови гідролізу не призводять до руйнування макромолекул [46]. Отриманий аніонний кополімер очищався шляхом осадження ацетоном, а потім був ліофілізований та зберігався у вакуумному екзикаторі для запобігання подальшому гідролізу. Всі розчини полімерів для подальших досліджень готувалися у подвійно дистильованій воді. Було показано, що синтезований полімер має зіркоподібну форму, а його макромолекулярна структура є більш жорсткою порівняно з лінійним PAA. Зірчастий кополімер в аніонній формі має більш жорстку та розширену структуру порівняно з його незарядженим аналогом. Відомо [47, 48], що розгалужені полімерні матриці є більш ефективними для синтезу металевих наночастинок *in situ*.



**Рис. 2.1.** Перетворення незарядженого кополімеру D-g-PAA у заряджену аніонну форму D-g-PAA<sup>an</sup> завдяки лужному гідролізу.

#### 2.1.4 Синтез квантових точок CdTe

Усі використані хімічні речовини були аналітичного класу або найвищої доступної чистоти. Як розчинник використовувалася вода Milli-Q. CdI<sub>2</sub>, NaOH та тіогліколева кислота (TGA, ≥ 90%) були придбані у Himlaborreactive (Україна). Квантові точки CdTe були синтезовані методами колоїдної хімії, що детально описано в роботі [54]. Низькотемпературний колоїдний синтез був проведений у реакторі повного перемішування у присутності тіогліколевої кислоти (TGA) як стабілізатора. Деіонізована вода була використана як дисперсійне середовище. CdI<sub>2</sub> був розчинений у воді, і TGA додавався при перемішуванні, а потім рН був доведений до 11 шляхом додавання краплями розчину NaOH. Газ H<sub>2</sub>Te пропускався через розчин з використанням аргону як

газу-носія. Попередники CdTe, що утворилися на цьому етапі, згодом перетворювалися на квантові точки CdTe після нагрівання розчину до 100 °С. Концентрація квантових точок CdTe в отриманому вихідному розчині становила 0,24 мг/мл.

### 2.1.5 Синтез карбоксилатної солі натрію N,N-карбоксиметил-1,6,7,12-тетрахлорперилендіїміду (PDI)

Синтез N,N-карбоксиметил-1,6,7,12-тетрахлорперилендіїміду (сполуки 1) [44] відбувався наступним чином. Розчин діангідриду 1,6,7,12-тетрахлорперилентетракарбоксильної кислоти (2,12 г, 4 ммоль) та гліцину (2,1 г, 0,028 моль) у 30 мл пропіонової кислоти кип'ятили зі зворотним охолодженням протягом 48 годин. Потім цю сполуку осаджували з додаванням діетилового ефіру, фільтрували та сушили протягом ночі у вакуумі при 100°C. Очищення було завершено за допомогою екстракційного апарату Сокслета для очищення діетиловим ефіром цієї сполуки, яку виділяли у вигляді оранжево-червоного порошку (2,02 г) з виходом 79%.

Синтез натрієвої карбоксилатної солі N,N-карбоксиметил-1,6,7,12-тетрахлорперилендіїміду (PDI). До 0,5 ммоль сполуки 1 у 10 мл безводного THF було додано 10 мл (1 ммоль) 0,1 М розчину гідроксиду натрію. Після перемішування при кімнатній температурі впродовж 16 годин розчин концентрували та сушили у вакуумі при 100°C протягом ночі, що призвело до утворення відповідних карбоксилатних солей (PDI).

Хімічні реакції синтезу барвника PDI – натрієвої карбоксилатної солі N,N-карбоксиметил-1,6,7,12-тетрахлорперилендіїміду схематично представлені на рис. 2.2.

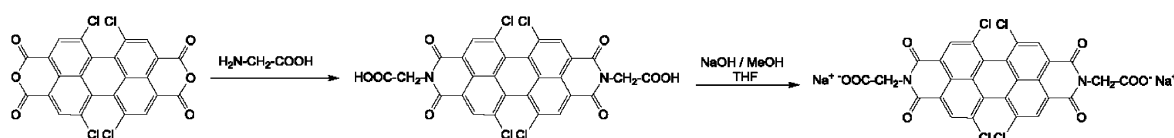


Рис. 2.2. Схема хімічних реакцій синтезу барвника PDI.

### **2.1.6 Приготування наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe**

Водний розчин гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe було отримано шляхом змішування водних розчинів D-g-PNIPAM/НЧ Au та КТ CdTe. Концентрація НЧ Au у розчині D-g-PNIPAM/НЧ Au становила 0,086 мг/мл. Оскільки вихідний розчин КТ CdTe був досить концентрованим (0,24 мг/мл), він був розбавлений дистильованою водою до концентрації 0,024 мг/мл, що забезпечило оптичну густину в спектральній області піку екситонного поглинання КТ CdTe приблизно такої ж величини, як відповідне значення для піку плазмонного поглинання НЧ Au у розчині D-g-PNIPAM/НЧ Au. У змішаному розчині D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe концентрація НЧ Au та КТ CdTe становила 0,043 мг/мл та 0,012 мг/мл відповідно. Після змішування розчин D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe зберігали в темряві при температурі 5 °С. Як буде показано нижче, після змішування, завдяки дифузії, частина КТ CdTe проникає в об'єм макромолекул D-g-PNIPAM/НЧ Au та зв'язується з ними, що призводить до утворення потрійних гібридних макромолекулярних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe.

### **2.1.7 Приготування гібридних наносистем D-g-PNIPAM/PDI та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI**

Водні розчини подвійних та потрійних гібридних наносистем D-g-PNIPAM/PDI та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI готувалися шляхом змішування водного розчину барвника PDI ( $0,29 \times 10^{-5} - 3,2 \times 10^{-5}$  моль/л, що відповідає 0,00205 – 0,02222 г/л) з водними розчинами полімеру D-g-PNIPAM або наногібрида D-g-PNIPAM/НЧ Au відповідно. Після змішування розчини гібридних наносистем зберігалися в темряві при температурі 5°C. Було продемонстровано (детально в наступних розділах), що після змішування внаслідок дифузії молекули барвника проникають в об'єм макромолекул D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au, що призводить до утворення подвійних та потрійних гібридних макромолекулярних наносистем D-g-PNIPAM/PDI та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI.

### **2.1.8 Приготування гібридних наносистем ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au**

Порошок ZnTPP був розчинений в етанолі при 40°C. Отриманий вихідний розчин ZnTPP в етанолі мав концентрацію 0,1 г/л. Вихідні водні розчини D-g-PNIPAM (концентрація D-g-PNIPAM = 1 г/л) та D-g-PNIPAM/НЧ Au (концентрації D-g-PNIPAM – 0,8696 г/л та Au – 0,8529 г/л) були розбавлені водою при 20°C для отримання розчинів з різною концентрацією. Нарешті, 0,03 мл розчину ZnTPP в етанолі були змішані з 2,97 мл розведених водних розчинів D-g-PNIPAM або D-g-PNIPAM/НЧ Au. В результаті були отримані водні розчини нанокompозиту ZnTPP/D-g-PNIPAM або ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, що містили 0,001 г/л ZnTPP та різні концентрації D-g-PNIPAM та/або Au.

### **2.1.9 Приготування гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА, ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag**

Вихідний етанольний розчин цинк тетрафенілпорфірину (ZnTPP) з концентрацією 0,1 г/л готувався при 40°C. Вихідні розчини D-g-РАА (с = 1 г/л) та D-g-РАА/наночастинок золота (с, D-g-РАА = 0,8696 г/л та сAu = 0,8565 г/л) готувалися шляхом розчинення у воді при 20°C. Потім 0,03 мл етанольного розчину ZnTPP (с = 0,1 г/л) змішували з 2,97 мл розведених водних розчинів D-g-РАА або D-g-РАА/НЧ Au. Зрештою, були отримані водні розчини композитних наносистем ZnTPP/D-g-РАА або ZnTPP/D-g-РАА/ НЧ Au різної концентрації. Концентрація ZnTPP для всіх зразків дорівнювала 0,001 г/л.

Для приготування потрібної гібридної наносистеми ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag відповідний об'єм розчину ZnTPP ( $10^{-3}$  г/мл) у ДМСО додавався до вихідного розчину D-g-РАА/НЧ Ag та перемішувався протягом 20 хвилин.

Оскільки фотосенсибілізатор цинк тетрафенілпорфірин (ZnTPP) є гідрофобним, при його додаванні до водних розчинів D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ

Au(Ag) молекули ZnTPP схильні до утворення агрегатів. У зв'язку з цим концентрація ZnTPP у водних розчинах не може бути великою. Однак, за дуже низьких концентрацій, за яких відсутнє утворення агрегатів, фотосенсибілізатор майже не має біологічної активності. Виходячи з цих міркувань, експериментально було визначено проміжну концентрацію ZnTPP (0,001 мг/мл) для водних розчинів наногібридів, що містять полімери, металеві наночастинки та ZnTPP. За цієї концентрації значної агрегації не спостерігається, але наногібриди вже демонструють виражену біологічну фотодинамічну активність. Тому використовувалася концентрація 0,001 мг/мл.

#### **2.1.10 Приготування наносистем ZnTPP/D-g-PAAn та ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au**

Цинк тетрафенілпорфірин (ZnTPP) був розчинений в етанолі за температури 40°C. В результаті було отримано вихідний розчин ZnTPP в етанолі з концентрацією 0,1 г/л. Вихідні розчини D-g-PAAn ( $c = 1$  г/л) та D-g-PAAn/НЧ Au ( $c_{D-g-PAAn} = 0,8696$  г/л та  $c_{Au} = 0,8565$  г/л) були розведені у воді кімнатної температури для приготування розбавлених розчинів з різною концентрацією. Потім до 2,97 мл розведених розчинів D-g-PAAn та D-g-PAAn/НЧ Au були додані 0,03 мл етанольного розчину ZnTPP ( $c = 0,1$  г/л). Концентрація ZnTPP в отриманих наносистемах ZnTPP/D-g-PAAn та ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au була постійною та дорівнювала 0,001 г/л. Концентрації D-g-PAAn та/або НЧ Au змінювалися.

## **2.2 Оптична характеристика зразків**

### **2.2.1 Дослідження зразків методами спектроскопії поглинання та фотолюмінесценції**

Спектри поглинання та фотолюмінесценції (ФЛ) реєструвалися за допомогою спектрофотометра Cary 60 UV-VIS (Agilent Technologies Inc.,

США) та спектрофлюорофотометра Shimadzu RF-6000 (Shimadzu Corp., Японія) відповідно. Зразки розчинів поміщувалися в поліровану кварцову кювету розміром 1 см × 1 см × 4 см.

Анізотропія ФЛ визначалася за формулою

$$r = \frac{I_{VV} - GI_{VH}}{I_{VV} + 2GI_{VH}}, \quad (2.1)$$

де  $I_{ij}$  – інтенсивність ФЛ, де індекси  $ij$  позначають орієнтацію поляризаторів до та після зразка відповідно (V – вертикальна, H – горизонтальна),  $G = I_{HV}/I_{HH}$  – фактор ґратки.

Для систем D-g-PNIPAM/PDI та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI вимірювання спектрів поглинання та ФЛ проводилися із затримкою 1 год після змішування водного розчину барвника PDI з водними розчинами D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au відповідно. Довжина хвилі збудження ФЛ становила 520 нм.

Для систем ZnTPP/D-g-PAAn та ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au вимірювання спектрів поглинання та ФЛ проводилися за кімнатної температури, з затримками від 1 хвилини до 7 днів після змішування етанольного розчину ZnTPP з водою та водними розчинами D-g-PAAn та D-g-PAAn/НЧ Au. ФЛ збуджувалася світлом з довжиною хвилі 421 нм.

Спектри випромінювання синглетного кисню були записані за допомогою спектрофлюориметра FluoroMax Plus CP (HORIBA Scientific) з використанням довжин хвиль 421 та 553 нм для збудження випромінювання синглетного кисню.

Для збудження ФЛ розчинів гібридних наносистем ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Ag використовувалося світло з довжиною хвилі 420 нм, оскільки вона спектрально збігається з найінтенсивнішим піком В смуги в спектрі поглинання фотосенсибілізатора ZnTPP. Вимірювання спектрів поглинання та ФЛ проводилося через 2 години після змішування розчину ZnTPP в етанолі з водою, водними розчинами D-g-PAAn, D-g-PAAn/НЧ Au, та D-g-PAAn/НЧ Ag, після завершення перехідних процесів проникнення молекул

ZnTPP у макромолекули D-g-PAA, D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA/НЧ Ag та зв'язування з ними.

Спектри ІЧ-поглинання (FTIR) D-g-PAA вимірювались на ІЧ-спектрофотометрі (GMI) Nicolet NEXUS-475 в діапазоні 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  з використанням тонких (6–9 мм) полімерних плівок. Плівки були отримані з водних розчинів.

Для систем ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM збудження ФЛ відбувалося світлом з довжиною хвилі 421 нм. Спектри вимірювались в діапазоні температур, що включає точку LCST переходу. Вимірювання поглинання та ФЛ проводилося через 1 день після змішування етанольного розчину ZnTPP з водою, водними розчинами D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au.

Спектри випромінювання синглетного кисню розчинів наносистем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au були виміряні за допомогою спектрофлюориметра FluoroMax Plus CP (HORIBA). ФЛ збуджувалася світлом з довжиною хвилі 421 нм. Емісія синглетного кисню збуджувалася світлом з довжиною хвилі 421 та 553 нм. Вимірювання проводилися із затримкою часу від 1 хв до 7 днів після змішування ZnTPP в етанолі з водою та водними розчинами D-g-PAA та D-g-PAA/НЧ Au. Спектри реєструвалися за кімнатної температури.

При дослідженні розчинів потрійних гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe для збудження фотолюмінесценції було використано світло з довжиною хвилі 416 нм. Спектри вимірювались в діапазоні температур 20–48 °C як при нагріванні, так і при охолодженні. Вимірювання проводилися з часом очікування 10 хв між двома послідовними температурними точками для термічної стабілізації системи. Були проведені поляризаційні вимірювання фотолюмінесценції, а саме була виміряна анізотропія поляризації фотолюмінесценції, яка визначалася зі співвідношення (2.1).

### **2.2.2 Динамічне розсіяння світла**

Розподіл за розмірами досліджуваних гібридних наносистем було отримано методом динамічного розсіяння світла (ДРС) з використанням аналізатора розміру частинок NanoBrook Omni (Brookhaven Instruments, USA), оснащеного діодним лазером 532 нм. Вимірювання проводилися в геометрії розсіяння назад (кут розсіяння  $173^\circ$ ). Розподіл розмірів частинок оцінювався за автокореляційними функціями з використанням методу розкладання невід'ємних усічених сингулярних значень, що детальніше описано в роботі [55].

Вимірювання розподілу розмірів частинок для наносистем на основі нетермочутливих полімерів D-g-РАА і D-g-РААap проводилося за кімнатної температури  $20^\circ\text{C}$ . Для наносистем на основі термочутливого полімеру D-g-PNIPAM вимірювання проводилися в діапазоні температур, що включає точку LCST переходу. При цьому вимірювання в кожній температурній точці проводилися при стабілізованій температурі. Для розчинів різних наносистем розподіли розмірів частинок вимірювалися в різні моменти часу (1 хв – 7 днів) після змішування розчинів окремих компонентів.

## **2.3 Просвічуюча електронна мікроскопія зразків**

Просвічуюча електронна мікроскопія (ПЕМ) проводилася за допомогою мікроскопів CM12 (FEI) з камерою Megaview SIS та Tecnai G2 (FEI) з камерою ssCCD Eagle. Вимірювання TEM проводилися за кімнатної температури.

## **2.4 Протоколи біологічних досліджень наносистем**

### **2.4.1 Антибактеріальна активність наносистем ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au**

Антибактеріальну активність водних розчинів ZnTPP, ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au було досліджено на диких штаммах *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Бактерії виділялися на жовтково-сольовому

агарі, що містив: м'ясо-пептонний агар – 70%, хлорид натрію – 10%, жовткову емульсію в 0,9% NaCl – 20%, рН середовища – 7,3. Антибактеріальна активність нанокмпозитів перевірялася в рідкому середовищі Мюллера-Хінтона №2: гідролізат казеїну – 17,5 г/л, гідролізат бичачого серця – 2 г/л, водорозчинний крохмаль – 1,5 г/л, рН середовища – 7,3.

Приготована суспензія *S. aureus* потім розділялася на аліквоти по 1 мл та інкубувалася при 37 °С протягом 20 хв для адаптації мікроорганізмів до змінених умов. Системи, що використовувалися в дослідженнях, також були чутливими до змін температури, отже дослідження проводилося при температурах 28, 31, 33, 35 та 37 °С. Антибактеріальна активність нанокмпозитів оцінювалася порівняно з контрольними зразками, що перебували в аналогічних умовах.

Процедура світлового опромінення зразків аналогічна описаній в параграфі 2.4.3. Максимальна тривалість інкубації нанокмпозитів у суспензії *S. aureus* не перевищувала 20 хв. Процедура підрахунку кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) аналогічна описаній в параграфі 2.4.3.

## **2.4.2 Біологічна активність наносистем ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag**

### **2.4.2.1 Антибактеріальна активність наносистем ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au**

Дослідження проводилися на диких штаммах *S. aureus*, виділених на сольовому яєчно-жовтковому агарі наступного складу: пептон – 10 г/л, хлорид натрію – 70 г/л, порошок екстракту серця – 5 г/л, маніт – 15 г/л, агар – 15 г/л, рН = 7,3. Чутливість мікроорганізмів до дії водного розчину нанокмпозиту ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au досліджувалася в суспензії бактерій, яку готували в середовищі Мюллера-Хінтона: гідролізат казеїну – 17,5 г/л, пептон – 2 г/л, водорозчинний крохмаль – 1,5 г/л, рН = 7,3.

Кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) становила  $3 \cdot 10^6$  –  $4 \cdot 10^6$  на мл. Приготована суспензія розділялася на скляні пробірки об'ємом 1 мл.

Бактерії перебували на водяній бані 20 хвилин при температурі 37°C перед експериментом. Було досліджено токсичність нанокompозиту ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та окремих компонентів у суспензії *S. aureus*. Кінцева концентрація ZnTPP становила 0,001 г/л, наночастинок Au – 0,08, 0,008 та 0,0008 г/л. Вимірювання проводилися з інтервалом 5 хв протягом 30 хв. Бактерицидний ефект розраховувався відносно аліквоти суспензії *S. aureus* за аналогічних умов, що дозволяє врахувати швидкість розмноження мікроорганізмів. Кількість КУО подвоюється кожні 1–1,5 години. Суспензія перебувала при температурі 37 °С протягом усього експерименту.

Зразки опромінювалися світлом з довжинами хвиль 420, 530 та 660 нм. Решта процедури світлового опромінення зразків аналогічна описаній в розділі 2.4.3. Процедура підрахунку КУО аналогічна описаній в розділі 2.4.3.

#### ***2.4.2.2 Активність наносистем ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag проти ракових клітин***

Дослідження було проведено з використанням лінії клітин раку передміхурової залози LNCaP, отриманої з банку клітинних ліній Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАНУ. Клітини культивувалися в поживному середовищі Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM (кат. 11995065, Thermo Fisher) з підвищеною концентрацією глюкози та пірувату, 10% сироваткою новонароджених телят (NCS, newborn calf serum), 40 мг/мл гентаміцину, в атмосфері 5% CO<sub>2</sub> при температурі 37°C. Наногібридні розчини додавалися до інкубаційного середовища методом двократного розведення в діапазоні концентрацій 0,172–0,001 мг/мл, а інкубувалися протягом 48 годин при 37°C.

Цитотоксичність кополімеру D-g-РАА, а також наночастинок золота та срібла оцінювалася методом двократного розведення з початкової концентрації 0,172 мг/мл для наночастинок золота та 0,023 мг/мл для наночастинок срібла. Фототоксичність при опроміненні світлом 420 нм визначалася в діапазоні доз опромінення 1–5 Дж/см<sup>2</sup> з потужністю світла 5, 10

та 20 мДж/с. Доза опромінення для клітин LNCaP з наногібридами встановлювалася на рівні 1 та 2 Дж/см<sup>2</sup> з потужністю світла 10 мДж/с. Світло 420 нм було обрано для опромінення, оскільки воно спектрально збігається з найінтенсивнішим В-піком спектра поглинання фотосенсибілізатора ZnTPP. Кількість життєздатних клітин було розраховано фотометрично після фарбування барвником кристалічний фіолетовий. Середовище було видалено, після чого в кожен лунку було додано 50 мл розчину кристалічного фіолетового (5 мг/мл барвника у 70% метиловому спирті). Через 10 хв барвник був тричі промитий водою. Результати було зареєстровано за допомогою багатолункового спектрофотометра при довжині хвилі збудження 540 нм. Відсоток пригнічення життєздатності клітин розраховувався наступним чином:  $IR = (1 - D_{\text{exp}} / D_{\text{contr}}) \times 100$ , де IR – цитотоксичність, наведена у %,  $D_{\text{exp}}$  – оптична густина експериментальної лунки при 540 нм, а  $D_{\text{contr}}$  – оптична густина контрольної лунки на 540 нм.

Для виявлення активних форм кисню були використані клітини LNCaP раку передміхурової залози. Клітини інкубувалися в середовищі DMEM (BioWest, Франція) з підвищеними концентраціями глюкози та пірувату, 10% фетальною бичачою сироваткою (BioWest) та 100 одиниць/мл пеніциліну/стрептоміцину (Thermo Fisher Scientific, США) при 37 °C та 5% CO<sub>2</sub>. Було висіяно  $3 \times 10^5$  клітин. Клітини інкубувалися протягом 2 год з ZnTPP/D-g-РАА (0,001 мг/мл), D-g-РАА/НЧ Ag (0,0047 мг/мл) та D-g-РАА/НЧ Au (0,086 мг/мл). Клітини опромінювали світлом з довжиною хвилі 420 нм. Потужність світла становила 10 мДж/с, а дози опромінення становили 1 Дж/см<sup>2</sup> та 2 Дж/см<sup>2</sup>.

Для визначення рівня активних форм кисню клітини ресуспендували у 0,5 мл 15 мМ 20,70-дихлорфлуоресцеїндіацетату (Sigma-Aldrich, США) та інкубували протягом 40 хвилин при 37 °C. Клітини промивалися 1,5 мл фосфатно-сольового буфера (PBS, Biowest) та центрифугувалися при 400g протягом 10 хв. Клітини ресуспендувалися у 0,5 мл PBS та були проаналізовані за допомогою проточного цитометра (DxFlex, США). Інтенсивність

фотолюмінесценції аналізувалася за допомогою каналу FITC (світловий фільтр 525/40 нм).

Для кожного зразка було проаналізовано щонайменше 10 000 живих клітин. Первинна обробка даних проводилася за допомогою програмного забезпечення CytExpert. Дослідження повторювали тричі.

Математична та статистична обробка отриманих результатів проводилася за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу, тесту Шеффе або тесту Краскела-Уолліса для непараметричних даних ( $p < 0,05$ ). Результати були представлені у вигляді середнього значення плюс-мінус стандартне відхилення.

#### **2.4.3 Антибактеріальна активність наносистем ZnTPP/D-g-PAAn та ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au**

Золотистий стафілокок (*S. aureus*) був виділений з відкритих ран на жовтково-сольовому агарі наступного складу: пептон, 10 г/л; хлорид натрію, 70 г/л; порошок екстракту серця, 5 г/л; маніт, 15 г/л; та агар, 15 г/л, а рН становив 7,3. Чутливість *S. aureus* до дії різних типів наносистем (D-g-PAAn, D-g-PAAn/НЧ Au, ZnTPP/D-g-PAAn та ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au) визначалася в рідкому середовищі Мюллера-Хінтона наступного складу: гідролізат казеїну, 17,5 г/л; пептон, 2 г/л; та водорозчинний крохмаль, 1,5 г/л, а рН становив 7,3. Кінцева кількість КУО у суспензії становила  $3-4 \times 10^6$  на мл.

Бактеріальну суспензію було розділено на аліквоти по 1 мл та інкубовано на водяній бані при температурі 37°C протягом усіх експериментів. Перед додаванням тестових зразків наносистем суспензії *S. aureus* інкубували протягом 20 хв при 37°C для адаптації до експериментальних умов. Були перевірені рівні токсичності окремих компонентів гібридної наносистеми. Вимірювання цитотоксичності проводилися з інтервалами 5 хв протягом 30 хв. Кінцева концентрація ZnTPP дорівнювала 0,001 г/л, а кінцеві концентрації D-g-PAAn та НЧ Au становили 0,08, 0,008 та 0,0008 г/л. Зміни кількості КУО

оцінювали відносно бактеріальної суспензії, яку зберігали за аналогічних умов, але без додавання наносистем.

Для опромінення світлом довжинами хвиль 420 та 530 нм використовувався світлодіодний прилад медичної світлотерапії LIKA-LED (Photonica Plus, Україна). Потужність світла становила 0,1 Дж/с, а доза опромінення збільшувалася від 3 до 18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Суспензію опромінювали впродовж 15 хв після додавання розчину.

Кількість КУО розраховувалася в камері Горяєва після фарбування суспензії акридиновим оранжевим ( $3,5 \times 10^3$  М). Фотолюмінесценція реєструвалася за допомогою мікроскопа Olympus BX53 з блоком X-Cite Series 120 Q та камерою DP72. Математична та статистична обробка отриманих результатів проводилася за допомогою тестів Шапіро-Вілка ( $p > 0,05$ ) та Шеффе (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Експерименти повторювалися тричі.

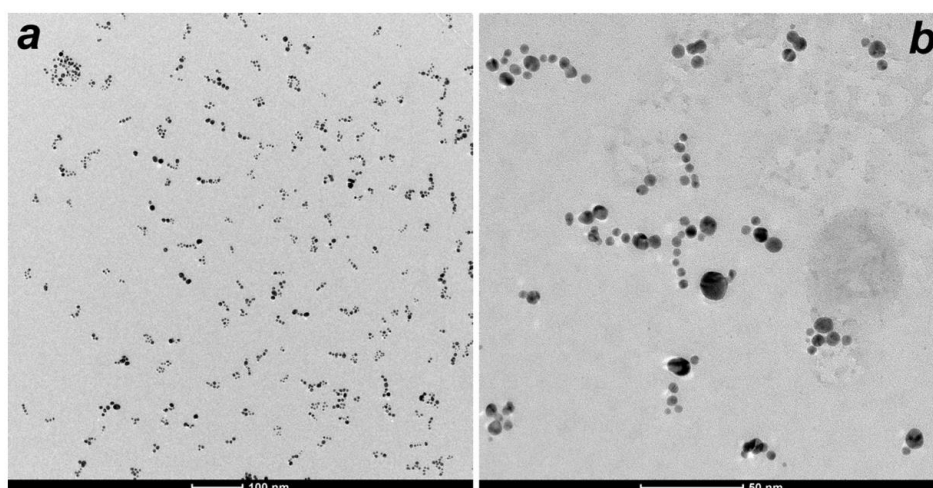
## РОЗДІЛ 3

### ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМ “ТЕРМОЧУТЛИВИЙ ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФЛЮОРОФОР”

**3.1 Температурно-керована плазмон-екситонна взаємодія в термочутливій гібридній наносистемі “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – квантові точки CdTe”**

**3.1.1 Дослідження морфології системи за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії**

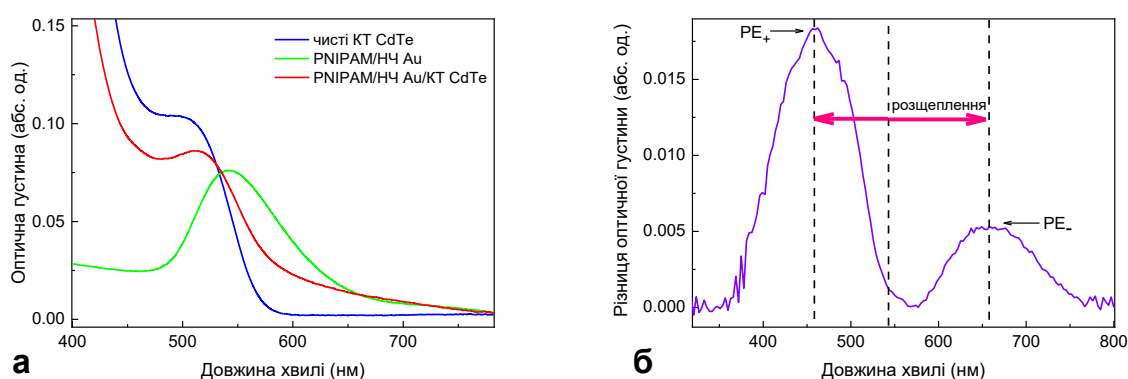
Типові зображення ПЕМ наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au, отримані за температури 25 °С, представлені на Рис. 3.1. Видно, що наночастинки Au є сферичними та мають середній розмір 8 нм. Через значно меншу контрастність макромолекул D-g-PNIPAM порівняно з наночастинками Au, полімерні макромолекули не видно на ПЕМ зображеннях. Розмір макромолекули полімеру можна оцінити як розмір кластерів наночастинок золота, відокремлених одна від одної. Ця оцінка дає розмір макромолекули D-g-PNIPAM близько 40 нм, що добре корелює зі значенням, визначеним методом динамічного розсіяння світла [52]. Зображення ПЕМ показують, що в синтезованому розчині немає агрегатів макромолекул, що, як зазначалося раніше, є наслідком того, що розчин D-g-PNIPAM був приготований при концентраціях полімеру нижчих за концентрацію кросоверу.



**Рис. 3.1.** Зображення TEM гібридних макромолекул D-g-PNIPAM/НЧ Au, отримані при меншому (а) та більшому (б) збільшенні.

### 3.1.2 Прояви плазмон-екситонної взаємодії в спектрах поглинання розчину наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe

Вимірювання спектрів поглинання водних розчинів гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe, а також водних розчинів макромолекул D-g-PNIPAM/НЧ Au та вільних квантових точок CdTe проводилося за кімнатної температури 20 °С. У спектрі поглинання наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 3.2 (а), видно чіткий пік ППР наночастинок Au з максимумом на 542 нм (2,29 еВ). Тим часом, вільні квантові точки CdTe демонструють екситонний пік поглинання з найнижчою енергією на 515 нм (2,41 еВ), що характерно для квантових точок CdTe розміром близько 3 нм [57, 58]. Важливою розмірною характеристикою квантових точок є їхній гідродинамічний розмір, який включає лігандну оболонку та найчастіше також шар молекул розчинника. У цій роботі, завдяки використанню малої молекули тіогліколевої кислоти як стабілізатора та води як розчинника, гідродинамічний діаметр квантових точок не перевищує 3,5 нм [59]. Видно, що енергії ППР в Au НЧ та екситону в КТ CdTe майже резонансні, з  $\delta\omega = \omega_{sp} - \omega_{exc} = 0,12$  еВ; таким чином, можна очікувати виникнення плазмон-екситонної взаємодії у гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe.



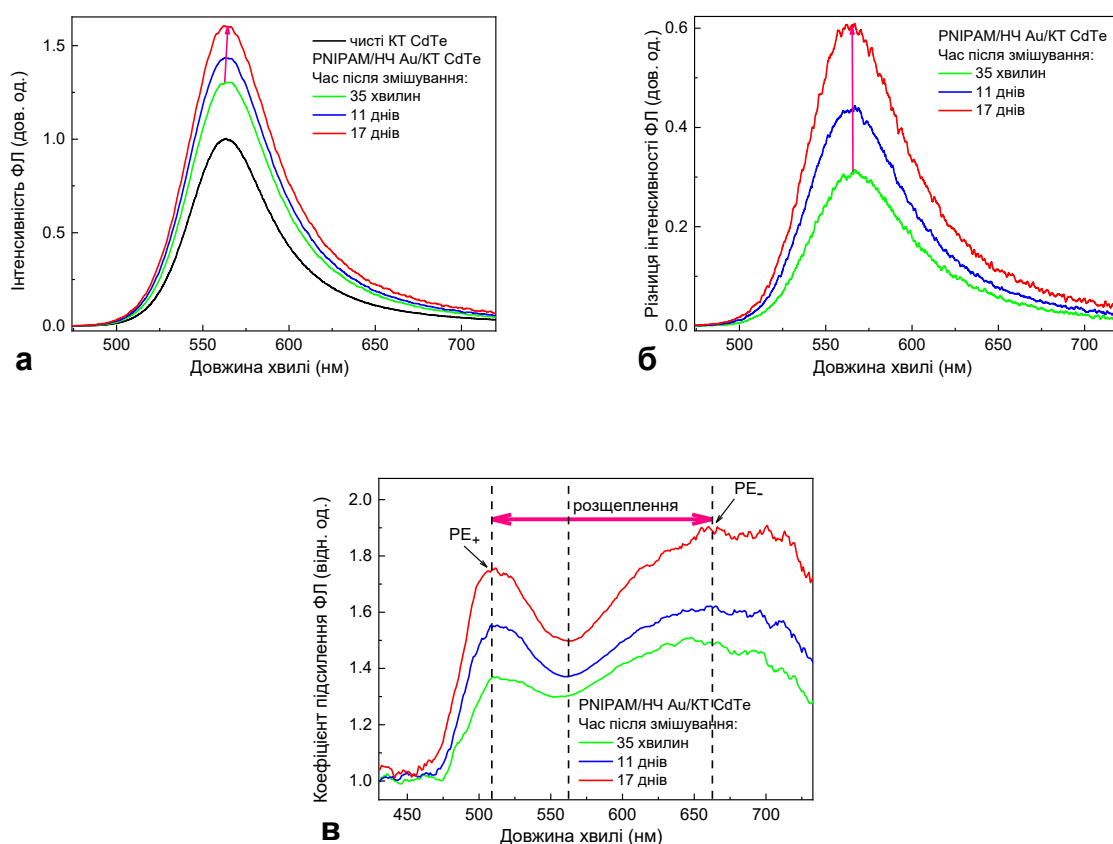
**Рис. 3.2. (а)** Спектри поглинання вільних КТ CdTe, D-g-PNIPAM/НЧ Au та гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe у водному розчині. **(б)** Різницевий спектр поглинання D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe (17 днів після змішування) відносно половини суми спектрів поглинання вільних КТ CdTe та D-g-PNIPAM/НЧ Au. Спектри були виміряні за температури 20 °С. Стрілки демонструють розщеплення плекситонних станів.

Як було сказано вище, водний розчин гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe був отриманий шляхом змішування розчинів наносистеми полімер-НЧ металу D-g-PNIPAM/Au НЧ та вільних квантових точок CdTe. Оскільки квантові точки CdTe досить малі порівняно з макромолекулою D-g-PNIPAM/Au НЧ, і враховуючи, що за кімнатної температури макромолекула полімеру D-g-PNIPAM знаходиться в гідрофільній фазі, можна очікувати проникнення квантових точок CdTe у внутрішній об'єм макромолекули з подальшим зв'язуванням квантових точок з нитками PNIPAM. Таке проникнення всередину макромолекули, та зв'язування з нею призводить до близького розташування квантових точок CdTe та наночастинок Au у внутрішньому об'ємі гібридної макромолекули. Докази наявності такого зв'язку представлені та обговорюються нижче при розгляді часової поведінки фотолюмінесценції наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe.

На рис. 3.2 (а) показано спектр поглинання (червона крива) водного розчину гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe через 17 днів після змішування розчинів D-g-PNIPAM/Au НЧ та квантових точок CdTe. На перший погляд, розщеплення піку поглинання гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe відсутнє. Незважаючи на те, що в спектр поглинання гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe внесок дають як квантові точки CdTe, зв'язані з D-g-PNIPAM/Au НЧ, так і вільні КТ, якщо загальна кількість незв'язаних квантових точок є помітно більшою ніж тих, що знаходяться в системі D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe, вільні КТ

домінуватимуть в спектрі. Тому, щоб виявити прояви взаємодії квантових точок з макромолекулами у спектрі поглинання, необхідно відняти внесок, зумовлений незв'язаними частинками. Це було зроблено шляхом розрахунку різницевого спектру поглинання наночастинок D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe відносно половини суми спектрів поглинання вільних квантових точок CdTe та наночастинок D-g-PNIPAM/Au НЧ, рис. 3.2 (б). Видно, що різницевий спектр має чітку двопікову структуру з високоенергетичним піком ( $PE_+$ ) на довжині хвилі 458 нм (2,71 еВ) та низькоенергетичним піком ( $PE_-$ ) на 662 нм (1,87 еВ). Спостережуване досить велике розщеплення,  $\Delta\omega_{\pm} = 0,84$  еВ, свідчить про утворення плекситонів завдяки сильній плазмон-екситонній взаємодії в гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe.

Спостережуване розщеплення (розщеплення Рабі) є проявом утворення двох гібридних станів плекситонів, а саме верхнього та нижнього станів плекситонів, з частотами  $\omega_+$  та  $\omega_-$  відповідно.



**Рис. 3.3.** Часова поведінка спектрів фотолюмінесценції **(а)**, різницевих спектрів фотолюмінесценції **(б)** та спектральної залежності коефіцієнта підсилення фотолюмінесценції **(в)** гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe у різний час після змішування. Різницеві спектри та спектральні залежності коефіцієнта підсилення фотолюмінесценції розраховані відносно спектру фотолюмінесценції вільних квантових точок CdTe. Спектри були виміряні при температурі 20 °С. Стрілки показують часову трансформацію спектра фотолюмінесценції **(а)**, **(б)** та розщеплення плекситонних станів **(в)**.

### **3.1.3 Часові зміни в спектрі фотолюмінесценції системи D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe.**

Спектр фотолюмінесценції (ФЛ) наногібридів D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe досліджувався залежно від часу, що минув після змішування розчинів D-g-PNIPAM/Au НЧ та вільних квантових точок CdTe. Результати представлено на рис. 3.3. Спектр вільних квантових точок CdTe, представлений на рис. 3.3(а), являє собою спектр початкового розчину вільних квантових точок CdTe, поділений на два, щоб компенсувати зменшення концентрації КТ в кінцевому розчині. На рис. 3.3(б) представлена часова еволюція різницевого спектра ФЛ, розрахованого відносно спектру ФЛ вільних квантових точок CdTe. Видно, що змішування призводить до досить швидкого збільшення інтенсивності ФЛ. Дійсно, вже через 35 хвилин після змішування інтегральна інтенсивність ФЛ збільшується в 1,36 рази.

Існує два ймовірних фізичних механізми спостережуваного часового збільшення інтенсивності фотолюмінесценції: плазмонне підсилення фотолюмінесценції внаслідок плазмон-екситонної взаємодії та агрегація квантових точок CdTe та/або наночастинок Au. Після змішування квантові точки CdTe проникають у внутрішній об'єм гібридних макромолекул D-g-PNIPAM/Au НЧ та зв'язуються з ними. Такі зв'язані квантові точки CdTe розташовані поблизу наночастинок Au, що спричиняє виникнення плазмон-

екситонної взаємодії, з відповідним підсиленням фотолюмінесценції квантової точки. Монотонне збільшення інтенсивності фотолюмінесценції продовжується впродовж кількох днів (рис. 3.3 (а), (б)), що вказує на те, що більша кількість квантових точок CdTe проникає в об'єм макромолекул та зв'язується з ними. Слід зазначити, що для контрольних зразків вільних квантових точок CdTe за той самий час змін у спектрі фотолюмінесценції (інтенсивність, спектральне положення та ширина піку) не спостерігалось. Отже, спостережувана зміна спектру фотолюмінесценції наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe спричинена зв'язуванням квантових точок CdTe з макромолекулами D-g-PNIPAM/Au НЧ, як обговорюється нижче.

У таблиці 3.1 кількісно представлено часову поведінку спектральних характеристик піку фотолюмінесценції. Видно, що коефіцієнт підсилення фотолюмінесценції (відношення інтегральних інтенсивностей фотолюмінесценції  $I(t)/I(0)$ ) монотонно зростає до 1,95 впродовж 17 днів. Окрім збільшення інтенсивності фотолюмінесценції, з часом спостерігається незначний монотонний червоний зсув та розширення піку фотолюмінесценції. Червоний зсув зумовлений залежністю частоти ППР в наночастинках Au від діелектричної проникності оточення  $\epsilon_m$ , як видно зі співвідношення (1.30). Оскільки діелектрична проникність напівпровідників досить висока (високочастотна діелектрична проникність для квантових точок CdTe розміром 3 нм становить 7,2 [60]), близькість квантових точок CdTe до наночастинок Au може значно збільшити ефективну діелектричну проникність оточення наночастинок Au, що призводить до зменшення  $\omega_{sp}$ . Відповідно, червоний зсув ППР викликає червоне зміщення піку плазмонно-підсиленої фотолюмінесценції квантових точок CdTe. Незначне розширення піку фотолюмінесценції, в свою чергу, зумовлене розширенням ППР, що зумовлене збільшенням флуктуацій  $\epsilon_m$ , що виникають внаслідок випадкового розташування квантових точок в об'ємі макромолекули D-g-PNIPAM/Au НЧ.

Час після змішування	0	35 хв.	11 дн.	17 дн.
Коефіцієнт підсилення (відн. од.)	1	1.36	1.52	1.95
Червоний зсув піка (нм)	0	0.6	1.0	1.6
Розширення піка (відн. од.)	1	1.06	1.07	1.08

**Табл. 3.1.** Залежність характеристик ФЛ від часу після змішування. Зміну характеристик подано відносно їх значення одразу після змішування.

Як було згадано вище, другою можливою причиною спостережуваних часових змін параметрів піків фотолюмінесценції може бути процес агрегації. Окремі розчини квантових точок CdTe та макромолекул наночастинок D-g-PNIPAM/Au НЧ є дуже стабільними в часі, і їхні спектральні властивості залишаються сталими навіть впродовж кількох місяців. Таким чином, агрегація може відбуватися лише при зв'язуванні квантових точок CdTe з макромолекулами D-g-PNIPAM/Au НЧ. Ймовірно, проникнення квантових точок у внутрішній об'єм гібридної макромолекули може погіршити колоїдну стабільність системи. Відомо, що агрегація квантових точок та наночастинок металу призводить до червоного зсуву та розширення екситонного піку та піку ППР. Таким чином, агрегація може бути ще одним механізмом спостережуваного часового червоного зсуву та розширення піку фотолюмінесценції. В той же час, вплив агрегації на інтенсивність фотолюмінесценції складніший порівняно з впливом на положення та ширину піку фотолюмінесценції. Агрегація квантових точок може впливати на щільність та орієнтацію лігандів, зв'язаних з поверхнею квантової точки, що призводить до певного зменшення інтенсивності фотолюмінесценції з часом. З іншого боку, плазмонні “гарячі точки”, що виникають в агрегатах металевих наночастинок, забезпечують більше локальне підсилення плазмонного поля, ніж ізольовані наночастинки, що має призводити до збільшення інтенсивності

фотолюмінесценції КТ з часом. Однак, враховуючи високу візуальну та спектральну стабільність суміші D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe в часі, можна припустити незначний вплив процесів агрегації на оптичні властивості розчину D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe.

Окрім загального підсилення фотолюмінесценції та часової еволюції інтегральної інтенсивності ФЛ важливо також проаналізувати спектральну залежність коефіцієнта підсилення. Ця залежність була розрахована як відношення спектрів ФЛ квантових точок CdTe, включених до макромолекул D-g-PNIPAM/Au НЧ (після змішування), до спектрів розчину вільних квантових точок CdTe, рис. 3.3 (в). Було отримано, що коефіцієнт підсилення має локальний мінімум на довжині хвилі ППР, тоді як максимумами підсилення відбуваються на довжинах хвиль, що відповідають обом плекситонним компонентам, рис. 3.2 (б). Спостереження розщеплення в спектрі ФЛ вказує на те, що ФЛ гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe зумовлена радіаційною рекомбінацією гібридизованих плазмон-екситонних квазічастинок, тобто плекситонів. Примітно, що провал на довжині хвилі ППР з часом поглиблюється, що доводить факт збільшення внеску плекситонної фотолюмінесценції (ФЛ) від гібридних наносистем D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe порівняно з екситонною ФЛ від вільних (незв'язаних) КТ CdTe. Цей внесок збільшується через зв'язування більшої кількості КТ CdTe з макромолекулами D-g-PNIPAM/Au НЧ з часом, що минув після змішування.

#### **3.1.4. Еволюція спектрів фотолюмінесценції D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe при проходженні через точку LCST переходу. Температурно керована плазмон-екситонна взаємодія**

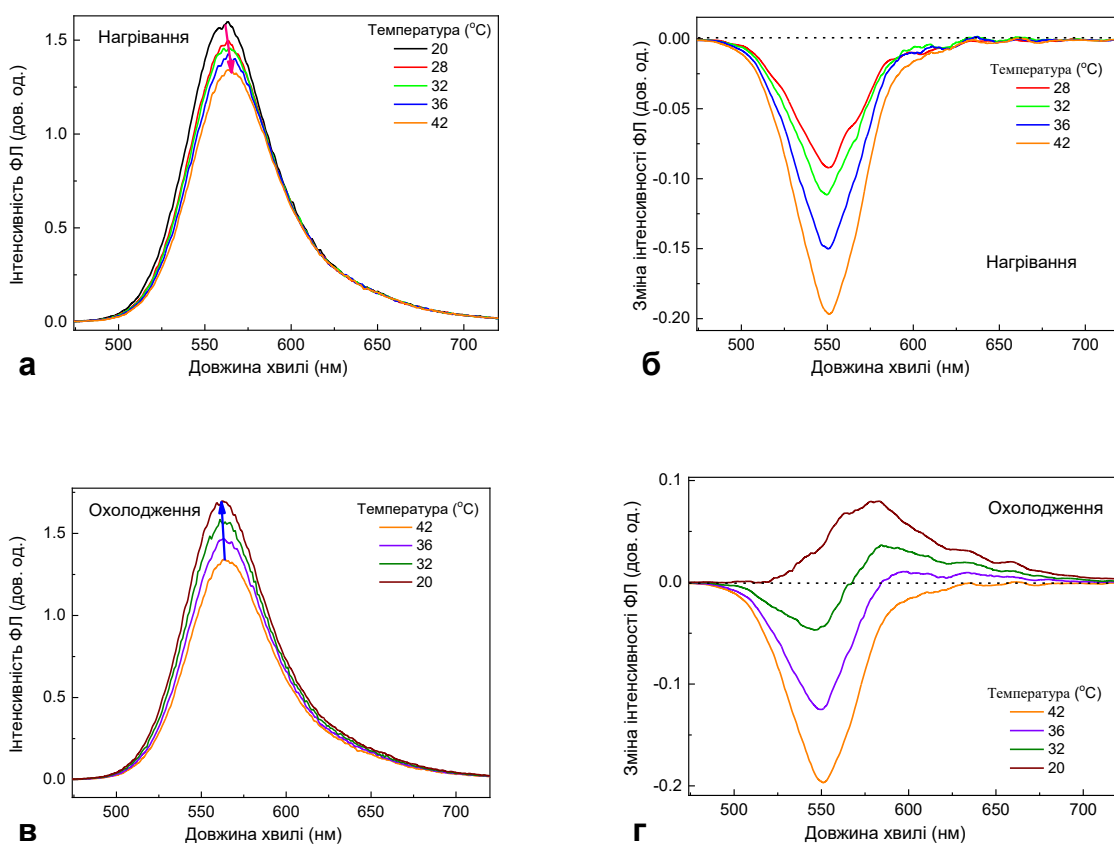
Відомо, що PNIPAM є термочутливим полімером, у якому структурний фазовий LCST перехід відбувається при 32 °С. Відповідно, такий LCST перехід також очікується в макромолекулярних наносистемах на основі PNIPAM. Зокрема, це спостерігалось для гібридної макромолекулярної

наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ в діапазоні температур 30–40 °С [41]. Під час циклу нагрівання-охолодження поблизу точки LCST переходу макромолекула полімеру стискається на стадії нагрівання та розширюється на стадії охолодження. Такі зміни розміру макромолекули D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe відповідно змінюватимуть відстань між Au НЧ та зв'язаними КТ CdTe. Це призводить до зміни сили плазмон-екситонного зв'язку, що спостерігатиметься як температурна залежність інтенсивності плекситонної фотолюмінесценції під час циклу нагрівання-охолодження.

На рис. 3.4 показано еволюцію спектра фотолюмінесценції (ФЛ) гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe під час циклу нагрівання-охолодження в діапазоні температур 20–48 °С, який містить точку LCST переходу. На рис. 3.4 (а), (б) показано еволюцію спектра ФЛ при нагріванні та подальшому охолодженні відповідно. Дані отримані на 17-й день після змішування. Для розрізнення змін у спектрі, різницеві спектри ФЛ наносистем D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe були розраховані відносно спектра ФЛ наносистем D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe, виміряного при початковій температурі 20 °С перед першим циклом нагрівання-охолодження. З рис. 3.4 видно, що впродовж циклу нагрівання-охолодження в спектрі ФЛ відбуваються досить значні зміни. Для кількісного аналізу цих змін були визначені температурні залежності нормованої інтегральної інтенсивності ФЛ, спектрального зсуву піку ФЛ та нормованої півширини (рис. 3.5). Інтенсивність піку фотолюмінесценції, зсув піку та півширина представлені відносно початкової температури 20 °С (до першого циклу нагрівання-охолодження). З рис. 3.4 та рис. 3.5 видно, що нагрівання призводить до зменшення інтенсивності фотолюмінесценції, її червоного зсуву та розширення піку фотолюмінесценції. Зауважимо, що всі ці зміни є досить сильними в діапазоні температур 28–40 °С і майже відсутні за температур поза цим діапазоном, рис. 3.5. Оскільки цей діапазон містить точку фазового LCST переходу у макромолекулі полімеру, цілком логічно припустити, що ці залежності в композитах з квантовими точками (КТ) зумовлені LCST

переходом. Варто зазначити, що спектри фотолюмінесценції розчину вільних квантових точок CdTe, записані за тих самих умов циклу нагрівання-охолодження, що й для розчину D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe, не виявили жодних змін. А саме, інтенсивність, спектральне положення та ширина піку фотолюмінесценції не змінювалися під час циклу нагрівання-охолодження. Таким чином, спостережувані зміни в спектрі фотолюмінесценції наносистем D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe зумовлені процесами, спричиненими LCST переходом у макромолекулі полімеру, як обговорюється нижче.

Розглянемо гасіння фотолюмінесценції (ФЛ), що відбувається при прямому переході через точку LCST при нагріванні, рис. 3.4 (а), рис 3.4 (б) та рис 3.5. Нагрівання від 20 до 48 °С призводить до зменшення інтенсивності ФЛ в 1,25 рази. Спостережуване гасіння відображає зменшення коефіцієнта плазмонного підсилення ФЛ, вираз (1.31).



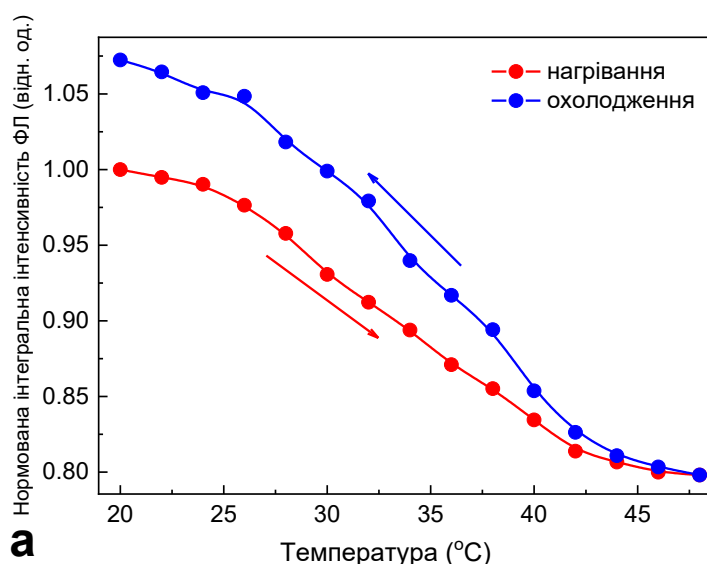
**Рис. 3.4.** Температурна залежність спектрів ФЛ та різницевих спектрів ФЛ гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe під час циклу нагрівання

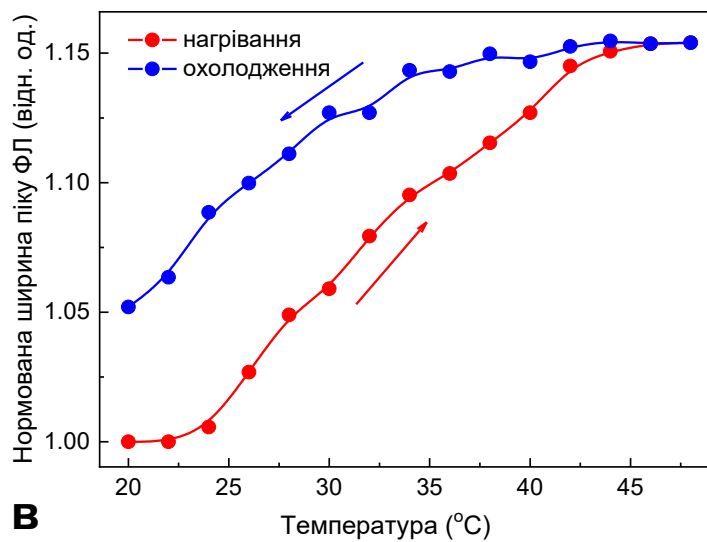
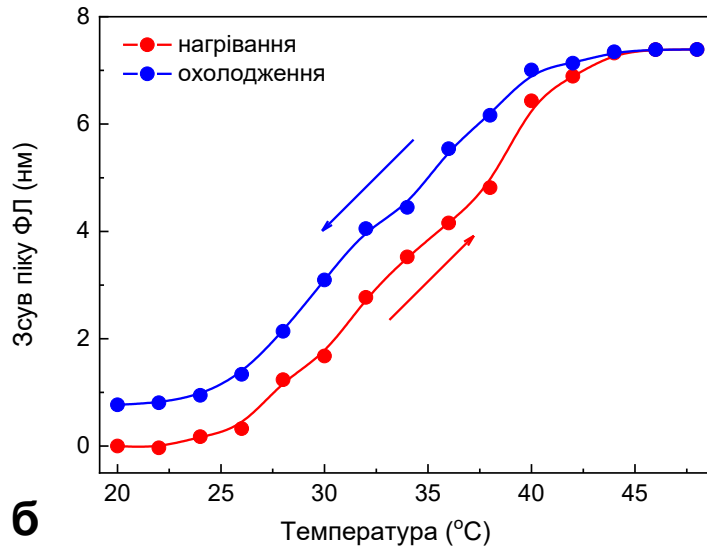
(а), (б) та подальшого охолодження (в), (г). Різницеві спектри розраховані відносно спектра фотолюмінесценції D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe при початковій температурі 20 °С перед циклом нагрівання-охолодження. Дані були отримані на 17-й день після змішування. Стрілки показують трансформацію спектра при нагріванні/охолодженні.

Під час прямого LCST переходу макромолекула D-g-PNIPAM/Au НЧ значно стискається; її середній розмір (гідродинамічний діаметр) зменшується з 37 до 20 нм (на 46%) [41]. Таке сильне стиснення повинно призводити до значного зменшення відстані між КТ CdTe та наночастинками Au. Логічно припустити, що гасіння фотолюмінесценції D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe, що спостерігається при нагріванні, викликане збільшенням швидкості безвипромінювальної дезактивації збудження внаслідок резонансного переносу енергії від КТ CdTe до наночастинок Au. Оскільки резонансне перенесення енергії різко зростає на відстанях менше 10 нм, можна зробити висновок, що квантові точки CdTe та наночастинки Au розташовані на відстані приблизно 10 нм одна від одної в макромолекулі D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe. Це свідчить про сильний режим плазмон-екситонного зв'язку в досліджуваній наносистемі. Різке зменшення відстані між квантовими точками CdTe та наночастинками Au при LCST переході повинно призводити до подальшого посилення плазмон-екситонного зв'язку.

Окрім гасіння ФЛ, при нагріванні від 20 до 48 °С відбувається значне червоне зміщення (7,4 нм) та розширення (1,15 рази) піку ФЛ. Природа червоного зміщення частково подібна до тієї, що викликає червоне зміщення піку ФЛ з часом. З одного боку, зменшення макромолекули призводить до значного зменшення відстані між зв'язаними квантовими точками CdTe та наночастинками Au, що спричиняє збільшення діелектричної проникності оточення наночастинок Au та відповідного зменшення  $\omega_{sp}$ . З іншого боку, зменшення призводить до зменшення відстані між наночастинками Au, що спричиняє посилення взаємодії між ними. Як добре відомо, посилення

взаємодії між плазмонними наночастинками призводить до зниження частоти плазмонного резонансу. Відповідно, червоне зміщення ППР викликає червоне зміщення піку ФЛ, підсиленого плазмонами. Розширення піку фотолюмінесценції зумовлене розширенням ППР, що є наслідком збільшення флуктуацій діелектричної проникності оточення наночастинок Au, спричинених збільшенням концентрації хаотично просторово розподілених наночастинок Au та квантових точок CdTe при стисканні макромолекули. Іншим механізмом червоного зсуву та розширення піку ФЛ, що виникає при LCST переході, може бути агрегація квантових точок CdTe та/або наночастинок Au. Важливо зазначити, що, як впливає з поведінки анізотропії ФЛ під час циклу нагрівання-охолодження, агрегації квантових точок CdTe не відбувається. Таким чином, це може бути лише агрегація наночастинок Au. Стискання молекули полімеру призводить до значного скорочення відстані між наночастинками Au, що сприяє утворенню агрегатів. Агрегація наночастинок Au також збільшує інтенсивність ФЛ, оскільки агрегати наночастинок металу сприяють створенню просторових областей з інтенсивним локальним плазмонним полем, так званих “гарячих точок”.

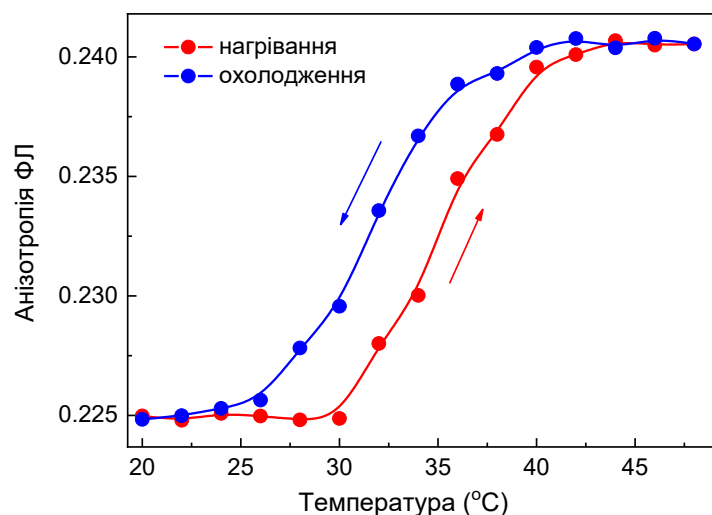




**Рис. 3.5.** Температурна залежність нормованої інтегральної інтенсивності **(а)**, червоного зсуву **(б)** та нормованої півширини **(в)** піку фотолюмінесценції квантових точок CdTe у гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe під час циклу нагрівання-охолодження. Інтенсивність, зсув та ширина піку фотолюмінесценції представлені відносно початкової температури 20 °C перед першим циклом нагрівання-охолодження. Дані були отримані на 17-й день після змішування. Стрілки показують напрямок процесу нагрівання/охолодження.

Також потрібно розглянути еволюцію спектру фотолюмінесценції (ФЛ) макромолекул D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe, що відбувається на етапі охолодження, рис. 3.4 (в), (г) та рис. 3.5. При охолодженні наносистема здійснює зворотний перехід через точку LCST. Видно, що в спектрі ФЛ відбуваються зворотні зміни, а саме: збільшення інтенсивності, зсув піку ФЛ у синю область спектра та звуження піку ФЛ. Такі зміни є цілком очікуваними. Дійсно, при зворотному LCST переході макромолекула розширюється, що збільшує відстань між КТ CdTe та наночастинками Au. Це призводить до різкого зниження ефективності резонансного перенесення енергії та супутнього збільшення квантового виходу ФЛ. Крім того, зменшення відстані між КТ CdTe та наночастинками Au призводить до послаблення взаємодії між наночастинками Au та зменшення діелектричної проникності оточення, що призводить до блакитного зсуву ППР та, відповідно, до зсуву піку ФЛ, підсиленого плазмонами. Зрештою, звуження піку фотолюмінесценції зумовлене зменшенням ширини ППР, спричиненого зменшенням флуктуацій діелектричної проникності оточення наночастинок Au, що пов'язано зі зменшенням концентрації випадково просторово розподілених наночастинок Au та квантових точок CdTe при розширенні макромолекули. Варто зауважити, що зміни в спектрі ФЛ при охолодженні не є повністю оборотними. Дійсно, після циклу нагрівання-охолодження спостерігаються деякі залишкові зміни в спектрі ФЛ порівняно зі спектром на початку циклу: дещо вища інтенсивність ФЛ, залишковий червоний зсув та розширення піку ФЛ. Можливою причиною такого явища може бути утворення агрегатів наночастинок Au під час стиснення молекули полімеру при нагріванні. Агрегація повинна призводити до червоного зсуву, розширення та збільшення інтенсивності піку ФЛ, як обговорювалося вище. Під час охолодження та після нього частина агрегатів може залишатися в гібридних макромолекулах. Відповідно, після циклу нагрівання-охолодження в спектрі ФЛ спостерігатимуться залишкові зміни.

Для кількісного аналізу процесу зв'язування квантових точок CdTe під час циклу нагрівання-охолодження було досліджено температурну залежність поляризаційної анізотропії фотолюмінесценції протягом цього циклу. Анізотропія ФЛ кількісно характеризує ступінь свободи випромінюючої квантової точки під час її руху. Для квантової точки, повністю обмеженої в русі, орієнтація дипольного моменту, збудженого лінійно поляризованим падаючим світлом, не змінюється протягом інтервалу часу між збудженням квантової точки та випромінюванням її фотонів ФЛ. Поляризація ФЛ у цьому випадку зберігається, і тому інтенсивність ФЛ з паралельними поляризаторами максимальна, а зі схрещеними - мінімальна. Анізотропія ФЛ  $r$  у цьому випадку дорівнює 1. Навпаки, для вільно рухомої квантової точки орієнтація випромінюючого диполя є довільною, і тому ФЛ повністю деполаризована, а  $r = 0$ .



**Рис. 3.6.** Температурна залежність анізотропії фотолюмінесценції КТ CdTe в гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/НЧ Au/KT CdTe під час циклу нагрівання-охолодження. Дані отримано на 17-й день після змішування. Стрілки показують напрямок процесу нагрівання-охолодження.

На рис. 3.6 показано виміряну температурну залежність анізотропії фотолюмінесценції під час фазового переходу в межах циклу нагрівання-охолодження. Видно, що на початку циклу  $r = 22.5\%$ , що вказує на те, що значна частина квантових точок CdTe не є вільними, тобто вони зв'язані з гібридною макромолекулою. При нагріванні до температури близько  $30\text{ }^\circ\text{C}$  анізотропія ФЛ не змінюється. При подальшому нагріванні в області фазового переходу в макромолекулі полімеру ( $30\text{--}40\text{ }^\circ\text{C}$ ) спостерігається її збільшення до  $24\%$ , що вказує на зменшення кількості ступенів вільності квантових точок CdTe, тобто на їх міцніший зв'язок з макромолекулою внаслідок стиснення макромолекули PNIPAM при LCST переході. При проходженні області LCST переходу (при температурах вище  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ) підвищення температури не змінює анізотропію ФЛ. При подальшому охолодженні розчину D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe до температури  $38\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $r$  не змінюється. При подальшому охолодженні до  $26\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $r$  зменшується до початкового значення  $22.5\%$ , що зумовлено розширенням макромолекули під час зворотного LCST переходу, що призводить до зменшення ступеня свободи випромінюючих квантових точок, зв'язаних з макромолекулою. Подальше охолодження до нижчих температур не змінює анізотропію фотолюмінесценції, оскільки розмір макромолекули не змінюється. Видно, що поведінка анізотропії ФЛ після циклу нагрівання-охолодження є оборотною, хоча існують залишкові зміни інтенсивності, положення та півширини піку ФЛ. Ці залишкові зміни інтерпретовано вище як результат агрегації, стимульованої стисненням молекули полімеру при нагріванні. Оборотний характер анізотропії ФЛ проявляється в тому, що кількість ступенів свободи квантових точок CdTe не змінюється під час циклу нагрівання-охолодження. Найімовірніше, це означає, що агрегація CdTe не відбувається, що, ймовірно, пов'язано з лігандною оболонкою навколо них. Отже, можна зробити висновок, що лише наночастинки Au частково агрегують під час LCST переходу при нагріванні. Імовірно, це пов'язано з відсутністю захисної оболонки навколо них. На рис. 3.6 показано, що температурна залежність анізотропії фотолюмінесценції має

певний гістерезис, що якісно подібно до результатів, отриманих раніше для бінарної системи D-g-PNIPAM/Au НЧ [41]. Відносно невелика зміна анізотропії фотолюмінесценції під час фазового переходу, ймовірно, пов'язана з тим, що значна частина квантових точок знаходиться у воді, тобто вони не зв'язані з полімером, а тому їхня фотолюмінесценція є неполяризованою. Оскільки сигнал фотолюмінесценції збирається з великого ансамблю квантових точок, як зв'язаних з полімером, так і незв'язаних, результатом цього усереднення є незначна зміна  $r$ .

Отже, можна зробити висновок, що температурна поведінка анізотропії фотолюмінесценції повністю доводить факт фазового LCST переходу у макромолекулі полімеру. Фазовий перехід дозволяє регулювати відстань між частинками, зв'язаними з полімером, тобто в цьому випадку наночастинками Au та квантовими точками CdTe, а отже, і силу плазмон-екситонного зв'язку, шляхом зміни температури, як обговорювалося вище. Отже, результати дослідження температурної залежності анізотропії ФЛ повністю підтверджують зроблені вище висновки. Видно, що температурно-індукована зміна  $r$  під час циклу нагрівання-охолодження є повністю оборотною, що дозволяє використовувати розчин наносистеми D-g-PNIPAM/Au НЧ/КТ CdTe протягом кількох циклів. Це дуже важливо для його потенційних застосувань у фотоніці та біомедицині. Наприклад, колоїдні розчини наносистем термочутливий полімер/напівпровідникова квантова точка/металеві наночастинки можуть бути використані в термочутливих фотолюмінесцентних оптичних перемикачах. Ідея базується на ефекті різкої зміни інтенсивності фотолюмінесценції цієї системи під час термоіндукованого фазового LCST переходу у гібридній полімерній молекулі при незначній зміні температури. Іншим потенційним застосуванням є внутрішньоклітинна фотолюмінесцентна термометрія, коли незначна зміна температури спричиняє значну зміну інтенсивності фотолюмінесценції, що дозволяє контролювати температуру клітини в режимі реального часу.

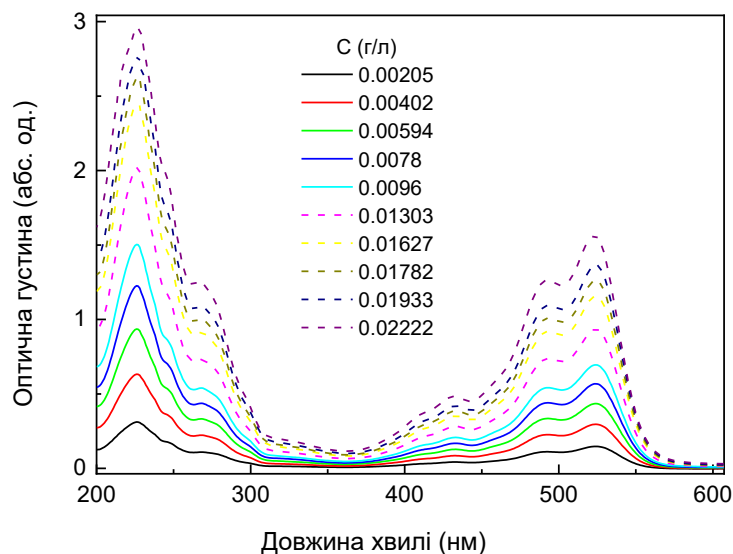
## **3.2 Вплив температури на фотолюмінесценцію гібридної наносистеми “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – перілендіїмід” як фізична основа для термочутливих оптичних перемикачів та люмінесцентних міток**

У якості матриці для молекул барвника перілендіїмиду використовувався полімерні макромолекули D-g-PNIPAM та гібридні макромолекули D-g-PNIPAM/Au НЧ, морфологія, розмірні характеристики та оптичні властивості яких описані вище в цьому розділі.

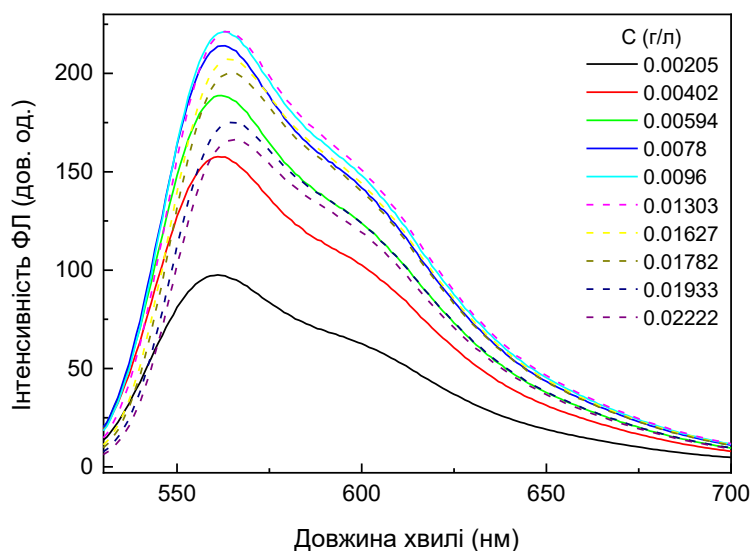
### **3.2.1. Концентраційні залежності спектрів поглинання та ФЛ водних розчинів PDI.**

Спочатку, для визначення оптимальної концентрації барвника PDI, були досліджені залежності спектрів поглинання (рис. 3.7) та фотолюмінесценції (рис. 3.8) барвника від його концентрації у водному розчині в діапазоні концентрацій 0,00205 – 0,02222 г/л. На рис. 3.7 видно, що збільшення концентрації барвника призводить до монотонного лінійного збільшення оптичної густини розчину без зміни форми спектра поглинання. Водночас збільшення концентрації барвника призводить до вираженої немонотонної поведінки інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції, рис. 3.8.

На рис. 3.9 представлено концентраційну залежність інтенсивності фотолюмінесценції барвника PDI у воді. Видно, що в діапазоні 0,00205 – 0,011 г/л збільшення концентрації призводить до підвищення інтенсивності фотолюмінесценції. При концентрації  $C_{opt} = 0,011$  г/л залежність досягає максимуму, а при подальшому збільшенні концентрації фотолюмінесценція барвника гаситься. Найімовірніше, ця залежність зумовлена агрегацією молекул барвника за вищих концентрацій, ніж  $C_{opt} = 0,011$  г/л. На основі отриманих даних для подальших досліджень була обрана оптимальна концентрація барвника  $C_{opt} = 0,011$  г/л, за якої спостерігається максимум інтенсивності фотолюмінесценції та відсутня агрегація барвника в системі.



**Рис. 3.7.** Концентраційна залежність спектра поглинання (оптичної густини) водного розчину барвника PDI. Суцільні та пунктирні лінії відповідають концентраціям, нижчим та вищим, відповідно, ніж оптимальна концентрація  $C_{opt} = 0,011$  г/л на рис. 3.9.

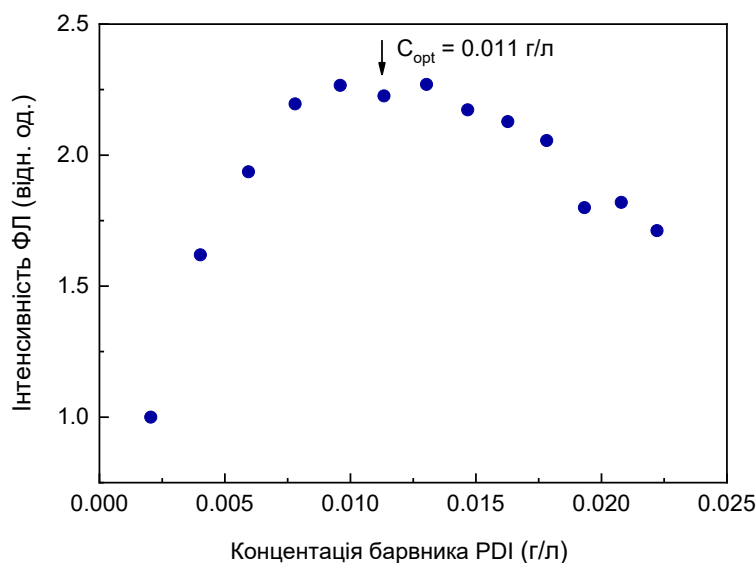


**Рис. 3.8.** Концентраційна залежність спектра фотолюмінесценції водного розчину барвника PDI. Довжина хвилі збудження становить 520 нм. Суцільні та пунктирні лінії відповідають концентраціям, нижчим та вищим відповідно за оптимальну концентрацію  $C_{opt} = 0,011$  г/л на рис. 3.9.

### 3.2.2. Концентраційні залежності спектрів поглинання та фотолюмінесценції водних розчинів систем D-g-PNIPAM/PDI, D-g-PNIPAM/НЧ Au та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI.

Після знаходження оптимальної концентрації барвника були досліджені залежності спектрів поглинання та фотолюмінесценції гібридних наносистем D-g-PNIPAM/PDI, D-g-PNIPAM/НЧ Au та D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI від концентрації їх компонентів. На рис. 3.10 показано концентраційну залежність спектрів поглинання цих систем. На рис. 3.10 (а) представлені спектри поглинання системи D-g-PNIPAM/PDI залежно від концентрації полімеру D-g-PNIPAM. Враховуючи, що пік поглинання полімеру знаходиться на довжинах хвиль коротших за 250 нм, УФ-спектр на цьому рисунку демонструє три характерні піки тетрахлорованого заміщеного хромофору PDI [61].

Спостерігається дуже слабе збільшення поглинання барвника зі збільшенням концентрації полімеру, що, ймовірно, вказує на зв'язування молекул барвника з макромолекулами полімеру. На рис. 3.10 (б) показано залежність спектру поглинання гібридної системи D-g-PNIPAM/НЧ Au від концентрації золота. Видно, що спектри поглинання мають виражений пік поглинання на 540 нм, зумовлений збудженням поверхневих плазмонів у наночастинках золота. Збільшення концентрації золота призводить до очікуваного монотонного збільшення поглинання. Рис. 3.10 (в) демонструє поведінку спектру поглинання потрійної гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI зі збільшенням концентрації золота. При низьких концентраціях золота бачимо, що піки поглинання барвника є домінуючими в спектрі, тоді як при високих концентраціях Au домінує плазмонний пік поглинання наночастинок золота. Виходячи з цього, природно вибирати проміжні концентрації золота, для яких інтенсивність піків поглинання барвника та наночастинок золота приблизно однакова, тобто близько 0,0145 г/л.

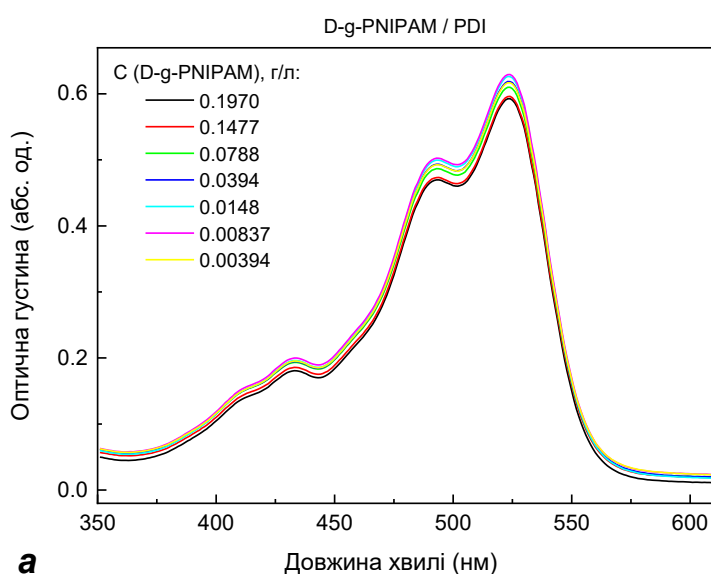


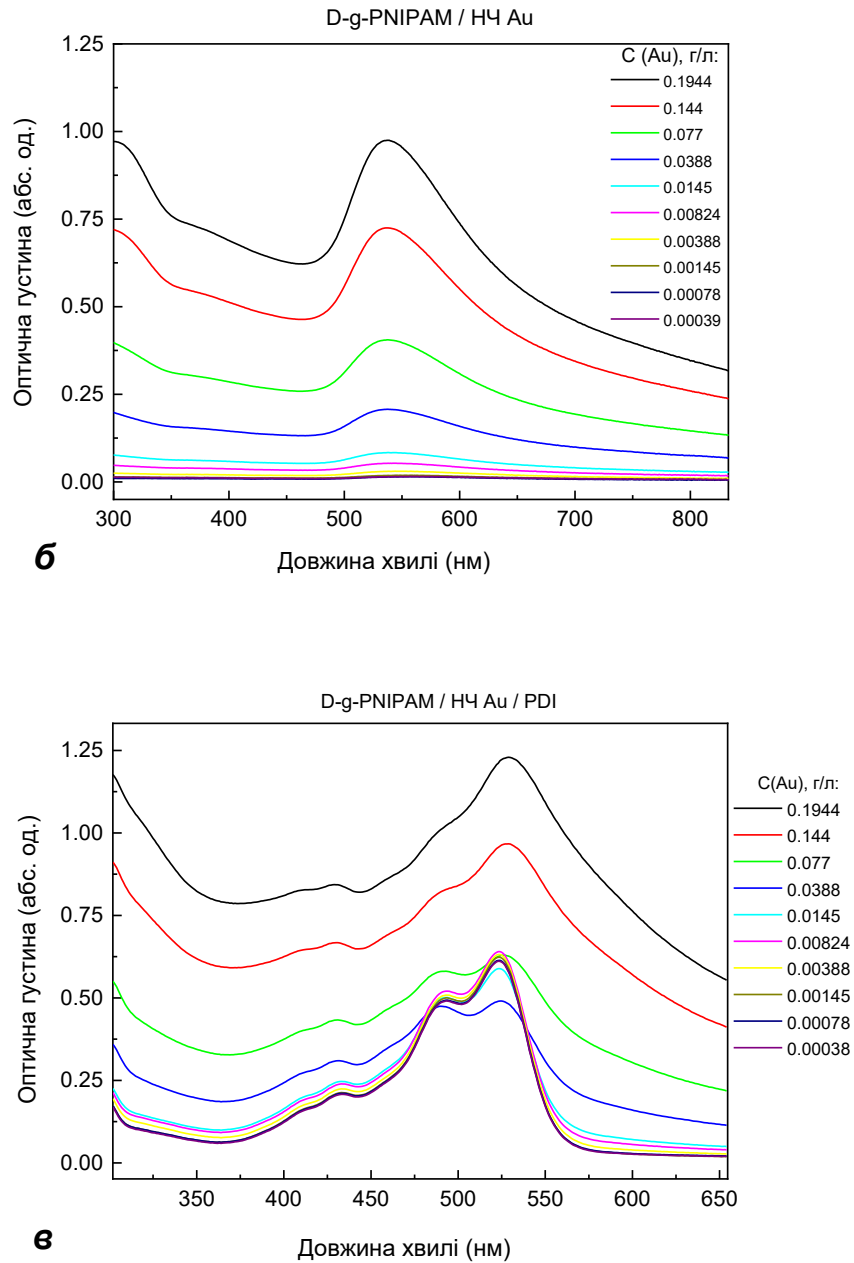
**Рис. 3.9.** Концентраційна залежність інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції водного розчину барвника PDI. Значення інтенсивності фотолюмінесценції нормовані до відповідного значення для барвника у водному розчині з мінімальною концентрацією 0,00205 г/л.

На рис. 3.11 представлено спектри фотолюмінесценції гібридних наносистем залежно від концентрації їхніх компонентів. Спектри фотолюмінесценції системи D-g-PNIPAM/PDI залежно від концентрації полімеру D-g-PNIPAM показано на рис. 3.11 (а). Представлені спектри відповідають поглинанню барвника, оскільки фотолюмінесценція полімеру відсутня в розглянутому спектральному діапазоні. Встановлено, що для системи D-g-PNIPAM/PDI залежність інтенсивності фотолюмінесценції барвника від концентрації полімеру відсутня.

Водночас, присутність наночастинок золота в системі D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI призводить до значних змін інтенсивності фотолюмінесценції барвника, як видно на рис. 3.11 (б) та рис. 3.12. При низьких концентраціях золота в діапазоні 0,00038 – 0,00145 г/л спостерігається незначне збільшення інтенсивності фотолюмінесценції барвника зі збільшенням концентрації, що, ймовірно, пов'язано з плазмонним підсиленням фотолюмінесценції. При

концентраціях золота вище 0,00145 г/л збільшення концентрації призводить до сильного гасіння фотолюмінесценції барвника. Оскільки при високих концентраціях золота, наночастинки золота (Au) та молекули барвника розташовані досить близько у внутрішньому об'ємі гібридної макромолекули D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI, це призводить до суттєвого збільшення ймовірності безвипромінювального резонансного перенесення енергії, імовірно – Фьорстерівського резонансного перенесення енергії (FRET), від молекул барвника до наночастинок золота. Значне перекриття спектру фотолюмінесценції барвника з максимумом на 560 нм та спектру поглинання наночастинок золота з максимумом на 540 нм свідчить про високу ймовірність FRET ефекту у системі D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI. Виходячи з отриманих даних, для подальших досліджень температурної залежності оптичних властивостей гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI, вирішено було обрати достатньо високу концентрацію Au НЧ, щоб забезпечити значну високу напруженість плазмонного поля у внутрішньому об'ємі макромолекули D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI та прояв плазмонних ефектів, але не настільки велику, щоб вплив FRET призводив до помітного гасіння ФЛ. Виходячи з цих міркувань, було обрано концентрацію золота 0,0145 г/л.





**Рис. 3.10.** Концентраційні залежності спектрів поглинання гібридних наносистем: **(а)** – D-g- PNIPAM/PDI від концентрації полімеру D-g-PNIPAM, **(б)** – D-g-PNIPAM/HЧ Au від концентрації золота, **(в)** – D-g PNIPAM/HЧ Au/PDI від концентрації золота. **(а)** та **(в)** – концентрація барвника PDI  $C_{opt} = 0,011$  г/л.

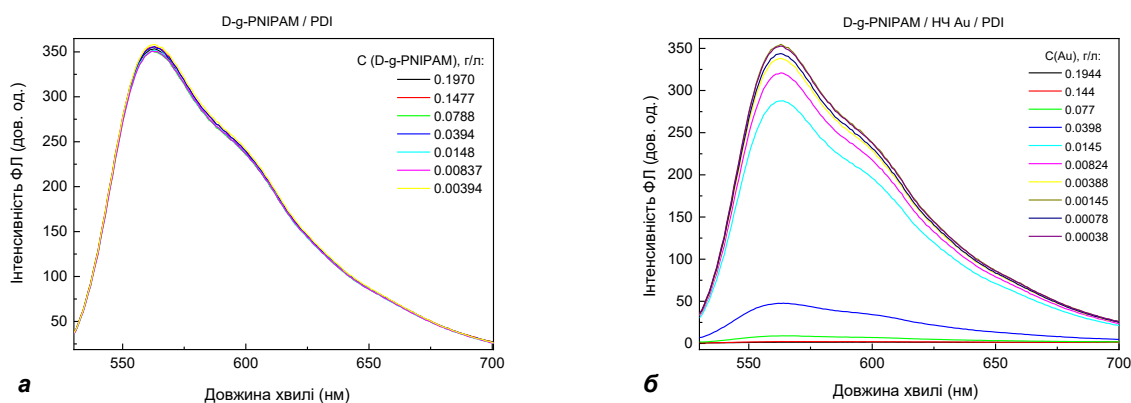
### 3.2.3. Вплив температурно-індукованого фазового LCST переходу на фотолюмінесценцію гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI

Спочатку був досліджений можливий вплив температури на спектри фотолюмінесценції окремо люмінесцентного компонента – барвника PDI у водному розчині. Оскільки умови вимірювання були подібними до відповідних температурних досліджень гібридних наносистем, вимірювання спектрів фотолюмінесценції проводилися під час циклу нагрівання-охолодження, починаючи з нагрівання від 25 °С до 47 °С і закінчуючи охолодженням до 25 °С. Вимірювання в кожній температурній точці проводилися після термостатування зразка протягом 5 хв. Згідно з вищезазначеними міркуваннями, температурні вимірювання спектрів фотолюмінесценції водного розчину PDI проводилися при оптимальній концентрації барвника  $C_{opt} = 0,011$  г/л. Отримані результати свідчать про відсутність впливу температури на інтенсивність фотолюмінесценції барвника під час циклу нагрівання-охолодження в діапазоні температур 25 – 47 °С, рис. 3.13. Цей результат є цілком очікуваним, враховуючи вузькість досліджуваного температурного діапазону.

Далі було досліджено ймовірний вплив температури на спектри фотолюмінесценції двокомпонентної гібридної системи D-g-PNIPAM/PDI, що не містить наночастинок золота (Au). На рис. 3.14 показано поведінку спектра фотолюмінесценції барвника в наносистемі D-g-PNIPAM/PDI при послідовному нагріванні, рис. 3.14 (а), та охолодженні, рис. 3.14 (б) в діапазоні температур 25–47 °С, що містить точку фазового LCST переходу у термочутливому зіркоподібному полімері D-g-PNIPAM (близько 34 °С). На рис. 3.15 показано інтенсивність фотолюмінесценції при різних температурах протягом циклу нагрівання-охолодження. Таким чином, на рис. 3.14 та 3.15 не виявлено суттєвого впливу LCST переходу полімеру D-g-PNIPAM на інтенсивність фотолюмінесценції барвника в системі D-g-PNIPAM/PDI. Гіпотетично, LCST перехід може впливати на інтенсивність фотолюмінесценції молекул барвника, зв'язаних з полімером, через ймовірну

агрегацію молекул PDI під час сильного скорочення молекули D-g-PNIPAM, що відбувається при нагріванні. Однак, як зазначалося вище, для вимірювань температурної залежності ФЛ системи була обрана низька концентрація барвника 0,011 г/л, при якій агрегації молекул PDI не було виявлено. Отже, відсутність помітної зміни інтенсивності фотолюмінесценції барвника свідчить про те, що збільшення концентрації молекул барвника PDI під час фазового переходу в полімері не перевищує критичного значення, при якому починається утворення агрегатів молекул барвника.

Нарешті, було досліджено вплив температури на спектр фотолюмінесценції барвника PDI в потрійній гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI. Як зазначалося вище, концентрацію барвника  $C_{opt} = 0,011$  г/л було обрано для забезпечення відсутності процесів агрегації, а концентрацію золота 0,0145 г/л було обрано для демонстрації достатньо сильного плазмонного підсилення при низькій інтенсивності гасіння фотолюмінесценції за допомогою FRET. На рис. 3.16 показано поведінку спектру фотолюмінесценції наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI при нагріванні та охолодженні відповідно. Температурна залежність інтенсивності фотолюмінесценції під час циклу нагрівання-охолодження представлена на рис. 3.17. Ці рисунки показують, що, на відміну від температурних вимірювань фотолюмінесценції вільного барвника PDI та барвника PDI в полімері D-g-PNIPAM без Au НЧ, під час циклу нагрівання-охолодження спостерігаються сильні зміни інтенсивності фотолюмінесценції для гібридної наносистеми, що містить Au НЧ. Дійсно, при підвищенні температури від 25 до 45 °C інтенсивність фотолюмінесценції збільшується в 1,5 рази, і особливо сильне збільшення спостерігається в діапазоні 33–40 °C, де знаходиться точка LCST переходу в D-g-PNIPAM. Під час охолодження відбувається обернене зменшення інтенсивності фотолюмінесценції.

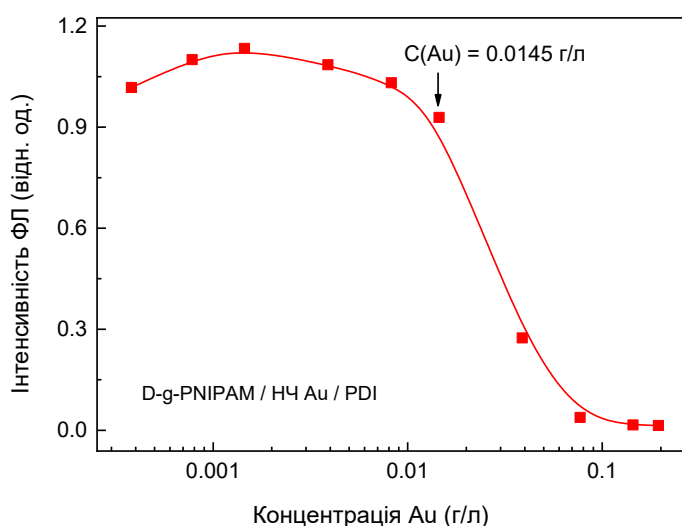


**Рис. 3.11.** Залежності спектрів фотолюмінесценції гібридних наносистем: **(а)** – D-g-PNIPAM/PDI від концентрації полімеру D-g-PNIPAM, **(б)** – D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI від концентрації золота. **(а)** та **(б)** – концентрація барвника PDI  $C_{opt} = 0,011$  г/л.

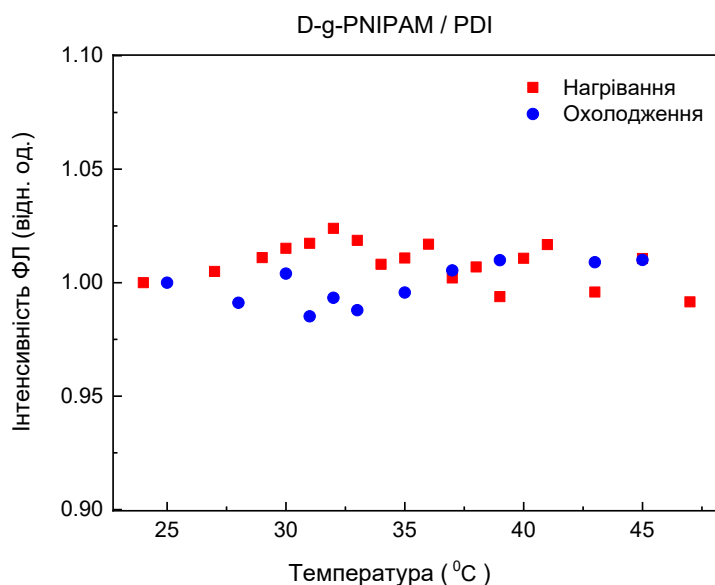
Відомо, що під час фазового LCST переходу при нагріванні макромолекула D-g-PNIPAM, а отже, і гібридна макромолекула на основі D-g-PNIPAM, сильно стискається. Це було доведено в попередніх роботах зі схожою системою, де було виявлено що розмір гібридної макромолекули D-g-PNIPAM/НЧ Au зменшується приблизно вдвічі під час фазового переходу [53]: гідродинамічний діаметр макромолекули D-g-PNIPAM/НЧ Au становить 37 нм при 33 °С; потім він різко зменшується до 21 нм при 37 °С через стискання макромолекули. При вищих температурах її розмір залишається незмінним. Охолодження викликає різке збільшення розміру макромолекули, досягаючи 37 нм при 29 °С.

Таким чином, різке зменшення макромолекули при проходженні через точку LCST переходу повинно призводити до зменшення відстані між молекулами барвника, зв'язаними з полімером, та НЧ Au. Оскільки при вибраних концентраціях барвника та золота середня відстань між молекулами PDI та наночастинками золота є недостатньою для ефективного безвипромінювального переносу енергії збудження FRET, значного гасіння фотолюмінесценції при такій зменшеній відстані не відбувається. У цьому

випадку процесу плазмонного підсилення оптичних процесів, зокрема ФЛ, не так сильно залежать від відстані, як FRET. Тому при відстанях між молекулами барвника та наночастинками золота при вибраних концентраціях вплив плазмонного підсилення на інтенсивність ФЛ повинен переважати ефект FRET. Таким чином, зменшення відстані між молекулами барвника та наночастинками золота під час фазового переходу призводить до локалізації молекул барвника PDI в більш інтенсивному плазмонному полі, а отже, до сильнішого плазмонного підсилення їх ФЛ. Оскільки максимум спектру фотолюмінесценції барвника (560 нм) та ППР в наночастинках Au (540 нм) спектрально майже збігаються, а ефект плазмонного підсилення має виражений резонансний характер, ефект плазмонного підсилення для досліджуваної наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI повинен бути особливо вираженим. У свою чергу, охолодження системи повинно призвести до зворотного розширення макромолекули та, як наслідок, до ослаблення плазмонного підсилення, що має призвести до зменшення інтенсивності фотолюмінесценції барвника. Цей ефект спостерігався експериментально, рис. 3.16 (б) та 3.17. Звертає на себе увагу повністю оборотний характер температурних змін інтенсивності фотолюмінесценції потрійної наносистеми D-g-PNIPAM /НЧ Au/PDI, що має велике значення для її практичного застосування.



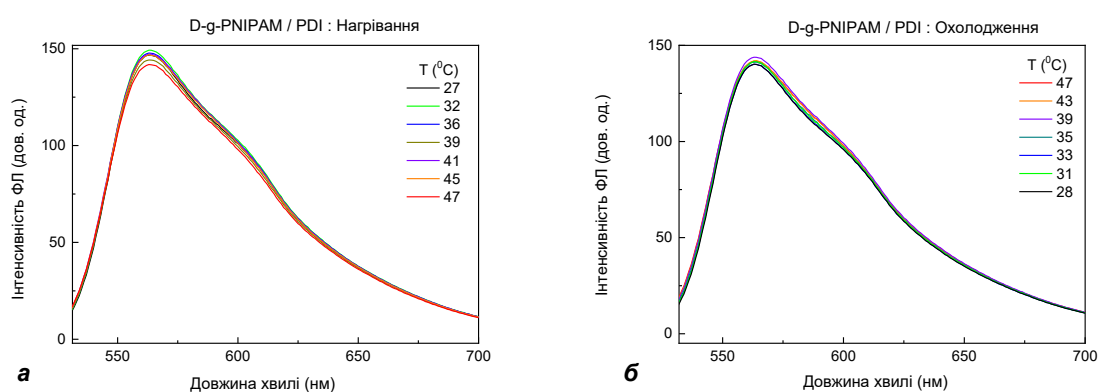
**Рис. 3.12.** Залежність інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції барвника PDI в потрійній гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI від концентрації золота. Значення інтенсивності фотолюмінесценції нормовані до відповідного значення для барвника у водному розчині з концентрацією  $C_{opt} = 0,011$  г/л.



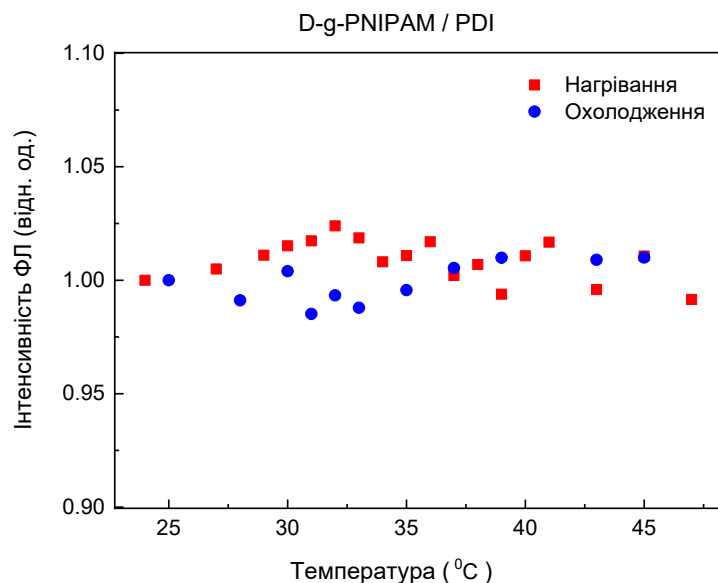
**Рис. 3.13.** Залежність інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції барвника PDI у водному розчині від температури при послідовному нагріванні та охолодженні. Значення інтенсивності фотолюмінесценції нормовані до відповідного значення при температурі 25 °C на початку циклу нагрівання-охолодження.

Додатковим підтвердженням сильного стискання гібридної макромолекули під час фазового переходу є результат вимірювання поляризаційної анізотропії фотолюмінесценції  $r$ . Анізотропія ФЛ кількісно характеризує ступінь свободи випромінюючих частинок під час їх руху. Для стаціонарних частинок орієнтація диполя, збудженого лінійно поляризованим світлом, не змінюється протягом часу між актами поглинання та випромінювання фотона частинкою. У цьому випадку ФЛ повністю поляризована, і тому інтенсивність ФЛ максимальна для паралельних

поляризаторів, і мінімальна (дорівнює 0) для перпендикулярних поляризаторів. У цьому випадку анізотропія ФЛ буде дорівнювати 1. І навпаки, для повністю вільної частинки орієнтація випромінюючого диполя довільна, і тому ФЛ повністю неполяризована, а отже  $r = 0$ . Вимірювання показали сильну температурну залежність анізотропії ФЛ для наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI. Зокрема, на початку циклу нагрівання-охолодження за температури 24 °С анізотропія ФЛ становить 10%, в процесі нагрівання вона зростає, а в кінці стадії нагрівання при 47 °С досягає 71%. Тим часом зворотне охолодження призводить до зменшення анізотропії ФЛ, досягаючи 15% в кінці стадії охолодження при 25 °С. Таким чином, перед нагріванням, коли макромолекула знаходиться в розширеному стані, молекули барвника, зв'язані з макромолекулою полімеру, є відносно вільними, і тому їх ФЛ слабо поляризована. В кінці нагрівання, коли макромолекула знаходиться в стиснутому стані, кількість ступенів свободи молекул барвника різко зменшується, що призводить до сильного збільшення анізотропії ФЛ у 7 разів. Нарешті, в кінці охолодження, коли макромолекула повертається до розширеного стану, кількість ступенів свободи молекул барвника знову збільшується, а анізотропія ФЛ знову зменшується майже до початкового рівня.



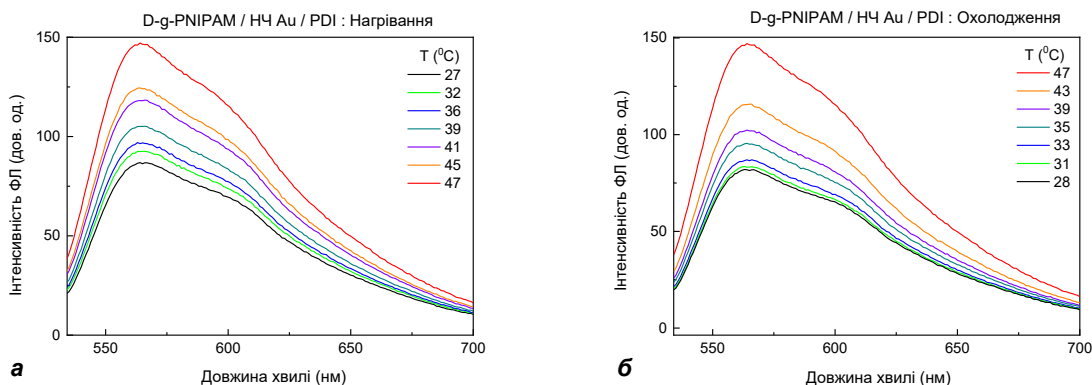
**Рис. 3.14.** Температурні залежності спектрів фотолюмінесценції барвника PDI в гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/PDI при послідовному нагріванні (а) та охолодженні (б). Концентрація барвника PDI – 0,011 г/л, полімеру D-g-PNIPAM – 0,0148 г/л.



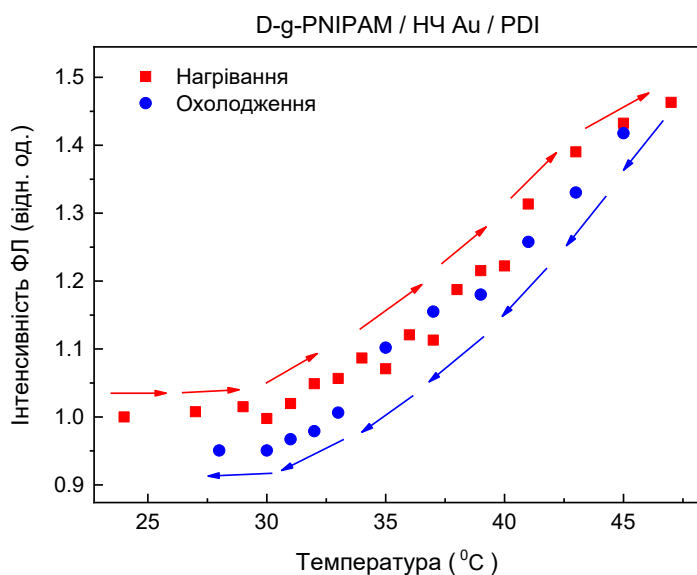
**Рис. 3.15.** Залежність інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції барвника PDI в гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/PDI від температури під час послідовного нагрівання та охолодження. Значення інтенсивності фотолюмінесценції нормовані до відповідного значення при температурі 24 °C на початку циклу нагрівання-охолодження.

Як згадувалося вище, температурно-індуковані зміни інтенсивності фотолюмінесценції потрібної гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI під час циклу нагрівання-охолодження є повністю оборотними, що дозволяє використовувати її впродовж багатьох таких циклів, що дуже важливо для її ймовірного застосування у фотоніці, біології та медицині. Наприклад, колоїдний розчин D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI може бути використаний у термочутливих фотолюмінесцентних оптичних перемикачах та мітках. Ця ідея базується на явищі різкої зміни інтенсивності фотолюмінесценції наносистеми під час термоіндукованого фазового LCST переходу у гібридних полімерних макромолекулах при незначній зміні температури. Інше можливе застосування стосується вимірювання температури шляхом вимірювання внутрішньоклітинної фотолюмінесценції, оскільки навіть невеликі зміни температури всередині клітини призведуть до помітної зміни інтенсивності

фотолюмінесценції, що дозволить визначати температуру клітини в режимі реального часу.



**Рис. 3.16.** Температурна трансформація спектрів фотолюмінесценції барвника PDI в потрійній гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI при послідовному нагріванні (а) та охолодженні (б). Концентрація барвника PDI – 0,011 г/л, полімеру D-g-PNIPAM – 0,0148 г/л, золота – 0,0145 г/л.



**Рис. 3.17.** Температурна залежність інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції барвника PDI в потрійній гібридній наносистемі D-g-PNIPAM/НЧ Au/PDI під час послідовного нагрівання та охолодження. Значення інтенсивності фотолюмінесценції нормовані до відповідного значення при температурі 24 °C на початку циклу нагрівання-охолодження.

### Висновки до розділу 3.

У цьому розділі дисертаційної роботи представлено результати досліджень потрійних гібридних наносистем типу “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – флюорофор”, в яких як флюорофор були використані два різні за своєю природою елементи: квантові точки CdTe та органічний барвник перілендіїмід (PDI). Було отримано такі результати:

- Було доведено зв'язування флюорофорів з гібридними макромолекулами декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au в результаті змішування розчинів флюорофора та гібридних макромолекул з вирощеними на них наночастинками, що дозволяє розглядати їх саме як потрійні гібридні наносистеми;
- Для обох досліджуваних систем було виявлено існування сильної взаємодії між плазмонними золотими наночастинками та флюорофором, інтенсивністю якої можна керувати шляхом зміни температури, змінюючи відстань між НЧ Au та молекулами флюорофору завдяки явищу фазового LCST-переходу в термочутливому полімері декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАміді);
- У системі D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe було виявлено ефект утворення квазічастинок плекситонів, що відбувається внаслідок сильної плазмон-екситонної взаємодії, що призводить до гібридизації станів поверхневих плазмонів та екситонів.

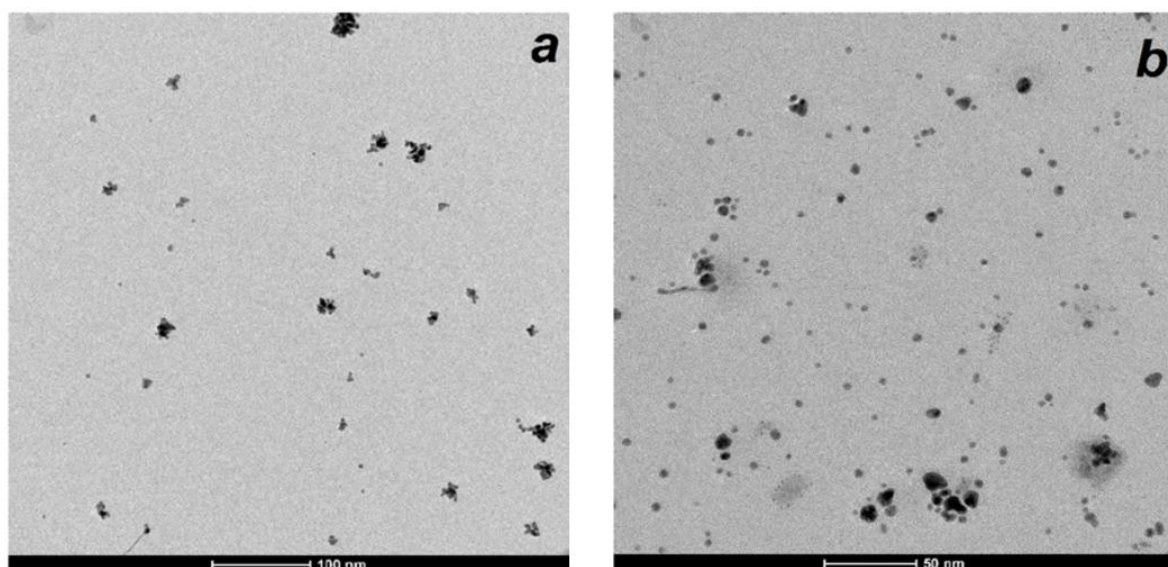
## РОЗДІЛ 4

### ПЛАЗМОННЕ ПІДСИЛЕННЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ГІБРИДНИХ НАНОСИСТЕМ “ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОР”

#### 4.1 Плазмонне підсилення антибактеріальної фотодинамічної ефективності гібридних наносистем “полімер декстран-поліакриламід – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”

##### 4.1.1 Дослідження розмірів та морфології системи за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії

Типові зображення наносистем D-g-РАА/НЧ Au, отриманих за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії, показано на рис. 4.1. Наночастинки Au мають сферичну форму та радіус  $2,8 \pm 0,8$  нм. Полімер не видно на зображеннях ПЕМ через значно менший контраст порівняно з металевими НЧ. Однак, можна побачити, що НЧ Au розташовані переважно групами, що підтверджує, що у зразках вони переважно зв'язані з макромолекулами D-g-РАА, хоча деякі з НЧ Au є вільними. Також молекули ZnTPP не видно на ПЕМ-зображеннях через їх малий розмір та низьку контрастність.

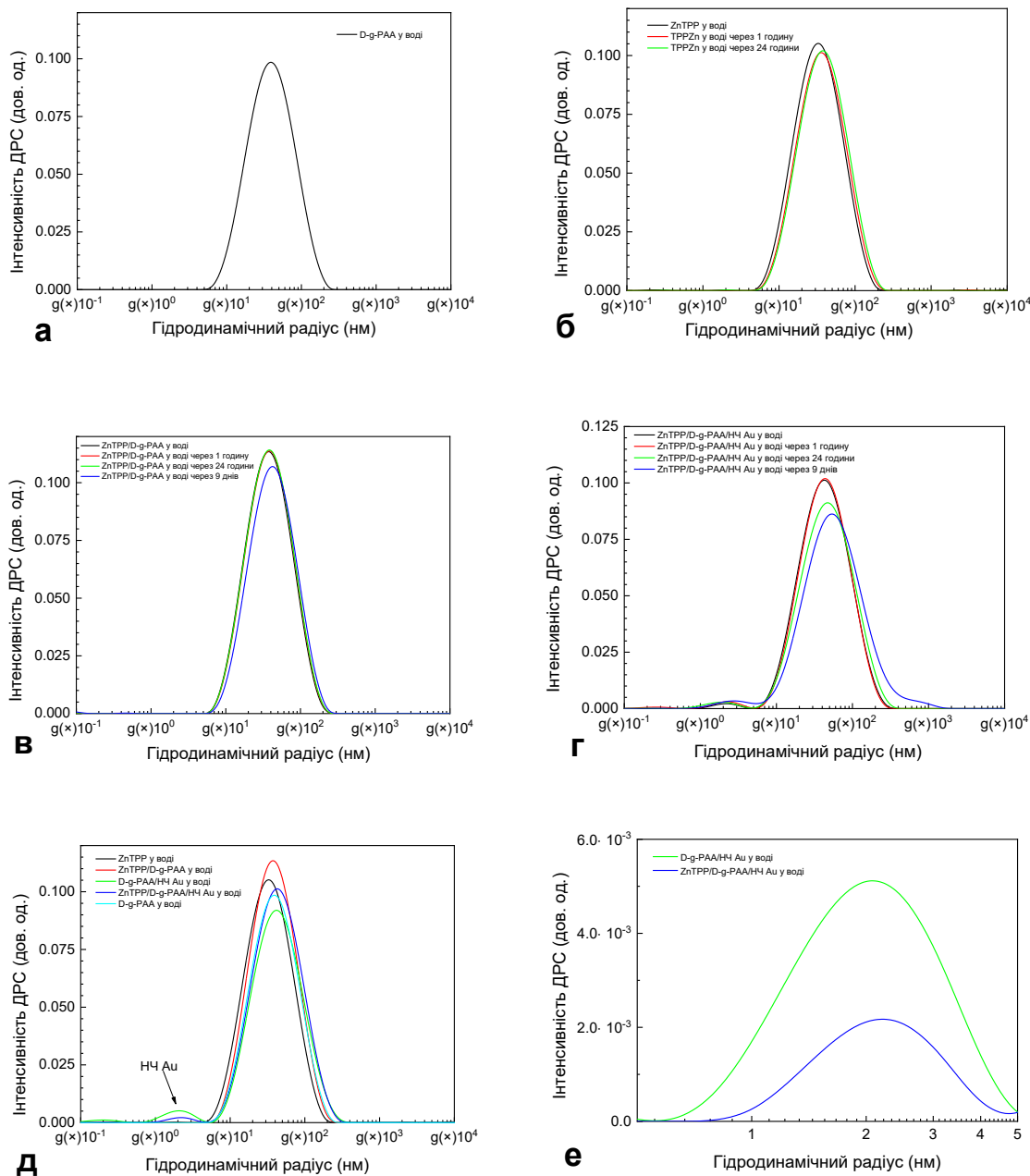


**Рис. 4.1.** Типові ПЕМ-зображення гібридної наносистеми D-g-РАА/НЧ Au.

Оскільки ПЕМ не дозволяє визначити морфологію та розмірні характеристики полімерних та фотосенсибілізуючих компонентів у гібридній наносистемі, додатково був використаний метод динамічного розсіювання світла. Розподіл розмірів частинок розчинів D-g-РАА, ZnTPP, ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au показано на рис. 4.2. Для дослідження стабільності ZnTPP, ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au у водних розчинах вимірювання динамічного розсіювання світла розчинів проводилися через 1 годину, 24 години та 9 днів після виготовлення (змішування). Розподіл за розмірами розчинів D-g-РАА містить один пік, що відповідає гідродинамічному радіусу  $R_H = 37$  нм, рис. 4.2 (а). Для ZnTPP, погано розчинного у воді, спостерігалися агрегати з  $R_H = 32$  нм, рис. 4.2 (б). Також з рис. 4.2 (б) видно, що розподіл за розмірами для водного розчину ZnTPP суттєво не змінювався впродовж часу спостереження. Лише через 9 днів пік дещо змістився в бік більшого радіуса. Розподіл за розмірами для системи ZnTPP/D-g-РАА подібний до розподілів для окремих розчинів ZnTPP та D-g-РАА, з максимумом на 38 нм, рис. 4.2 (в). Це цілком очікувано, враховуючи близькі значення гідродинамічного радіуса окремих компонентів розчину. Також було виявлено, що система ZnTPP/D-g-РАА є агрегативно та седиментаційно стабільною, з максимумами на  $R_H = 38\text{--}41$  нм.

Трикомпонентна система ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au характеризується розподілу за розмірами з двома піками на 3 нм та 44 нм, рис. 4.2 (г). Перший максимум пов'язаний з наночастинками Au, а другий – з ZnTPP та D-g-РАА. Варто зауважити відповідність між середнім радіусом наночастинок Au, отриманим методами ПЕМ (2,8 нм) та ДРС (3 нм). Варто зазначити що незважаючи на низьку інтенсивність піку розподілу за розмірами для НЧ Au, відносна кількість наночастинок Au є досить великою, оскільки інтенсивність релєївського розсіювання для малих частинок пропорційна  $H_R^6$ . Після першого дня не спостерігалось змін у положеннях обох піків розподілу за розмірами

для системи ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au, рис. 4.2 (г). Лише через 9 днів другий пік, що відноситься до ZnTPP/D-g-PAA, змістився з 44 до 54 нм, і з'явився додатковий пік з низькою інтенсивністю на 650 нм, що скоріш за все відповідає великим агрегатам, рис. 4.2 (г).



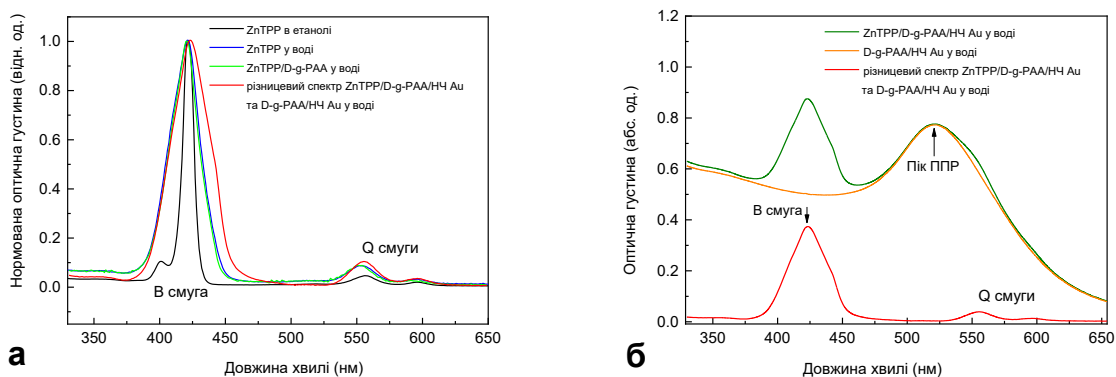
**Рис. 4.2.** (а) – Розподіл за розмірами для водного розчину D-g-PAA. Розподіл за розмірами для свіжоприготованого водного розчину та цього розчину через 1 годину, 24 години та через 9 днів для: (б) – ZnTPP, (в) – ZnTPP/D-g-PAA, (г) – ZnTPP/D-g-PAA /НЧ Au. (д) – Розподіл за розмірами для свіжоприготованих водних розчинів D-g-PAA, ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAA, D-g-PAA /НЧ Au та

ZnTPP/D-g-PAA /НЧ Au. (e) – Пік наночастинок Au для систем D-g-PAA /НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA /НЧ Au.

Розподіл за розмірами для кожної досліджуваної системи зібрані на рис. 4.2 (д) для зручності порівняння. Усі системи містять один чітко виражений пік на 37–44 нм з подібною шириною та формою піку, і лише розподіли розмірів частинок систем, що містили наночастинки Au, мали другий пік низької інтенсивності на 3 нм (рис. 4.2 (e)).

#### **4.1.2 Прояви зв'язування молекул фотосенсибілізатора ZnTPP з макромолекулами D-g-PAA та гібридними макромолекулами D-g-PAA/НЧ Au в спектрах поглинання та люмінесценції досліджуваних систем**

На рис. 4.3 представлені спектри поглинання розчину ZnTPP в етанолі та розчину ZnTPP в етанолі, змішаного з водою та водними розчинами полімеру D-g-PAA та наногібрида D-g-PAA/НЧ Au. Спектр поглинання розчину ZnTPP в етанолі, рис. 4.3(a), має структуру, характерну для порфіринів в органічних розчинниках [62 – 65]. Спектр містить слабкі низькоенергетичні Q смуги на 530–620 нм та інтенсивну високоенергетичну В- (Core) смугу на 380–440 нм. Багатокомпонентна структура Q та В смуг відображає коливальну структуру збудженого електронного стану. У свою чергу, спектр поглинання гібридних наносистем D-g-PAA/НЧ Au містить смугу ППР наночастинок Au з максимумом на 520 нм, рис. 4.3 (б). Полімер D-g-PAA має спектри поглинання та ФЛ в УФ-діапазоні, за межами розглядуваного спектрального діапазону.



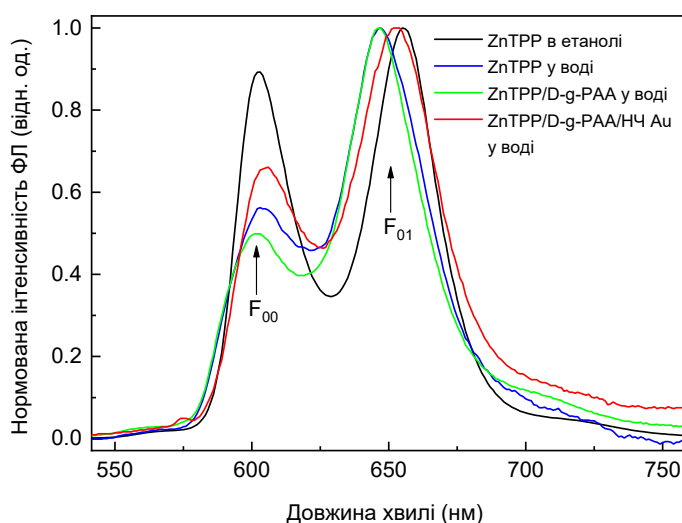
**Рис. 4.3.** (а) – Нормовані спектри поглинання ZnTPP в етанолі та ZnTPP в етанолі, змішаному з водою, водним розчином D-g-РАА, та водним розчином D-g-РАА/НЧ Au. (б) – Нормований спектр поглинання розчину ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та різницевий спектр розчинів ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Au. Різницевий спектр представлено для віднімання поглинання НЧ Au. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-РАА – 0,080 г/л, Au – 0,079 г/л.

Змішування ZnTPP в етанолі з водою призводить до значної трансформації спектру поглинання, рис. 4.3 (а). На рис. 4.3 (а) спектри нормовані за інтенсивністю, щоб краще побачити зміни форми спектра в результаті змішування. Інтенсивність смуги В різко зменшується в 2,5 рази. Також значно збільшується ширина В смуги, що розмиває дублетну структуру цієї смуги. Одночасно збільшується інтенсивність слабких Q смуг. Оскільки молекули ZnTPP є гідрофобними, спостережувані зміни в спектрі поглинання, найімовірніше, спричинені їх агрегацією у водному середовищі. Цей висновок щодо утворення агрегатів ZnTPP повністю узгоджується з результатами ДРС, які показують наявність агрегатів ZnTPP радіусом 32 нм у воді, рис. 4.2 (б).

Змішування ZnTPP в етанолі з водним розчином D-g-РАА не викликає помітних змін у формі спектра поглинання порівняно з випадком води. Це спостереження відбувається в повному діапазоні досліджених концентрацій полімеру. Однак, змішування з розчином полімеру призводить до збільшення інтенсивності спектру поглинання зі збільшенням концентрації полімеру.

Також було проведено змішування ZnTPP з водним розчином гібридних макромолекул D-g-РАА/Au НЧ. Спектр поглинання водного розчину гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au представлено на рис. 4.3 (б). Оскільки спектри поглинання наночастинок Au та ZnTPP суттєво перекриваються, для аналізу змін у спектрі ZnTPP, спричинених змішуванням, було проаналізовано різницевий спектр водних розчинів гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Au, рис. 4.3 (а), рис 4.3 (б). Варто зауважити, що присутність наночастинок Au викликає подальше збільшення відносної інтенсивності слабких Q-смуг порівняно з інтенсивністю В-смуги, що вказує на вплив наночастинок Au на поглинальні переходи в молекулах ZnTPP. Таким чином, спостережувані зміни в спектрі поглинання ZnTPP при змішуванні доводять зв'язування молекул ZnTPP як з вільними макромолекулами полімеру D-g-РАА, так і з гібридними макромолекулами D-g-РАА/НЧ Au.

На рис. 4.4 показано спектри фотолюмінесценції ZnTPP у розчині етанолу, його суміші з водою та водними розчинами D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au. Спектр ФЛ розчину ZnTPP в етанолі, рис. 4.4, має структуру, типову для порфіринів в органічних розчинниках [63, 64]. У спектрі домінують дві смуги: високоенергетична смуга  $F_{00}$  з максимумом на 602 нм та низькоенергетична смуга  $F_{01}$  на 655 нм.

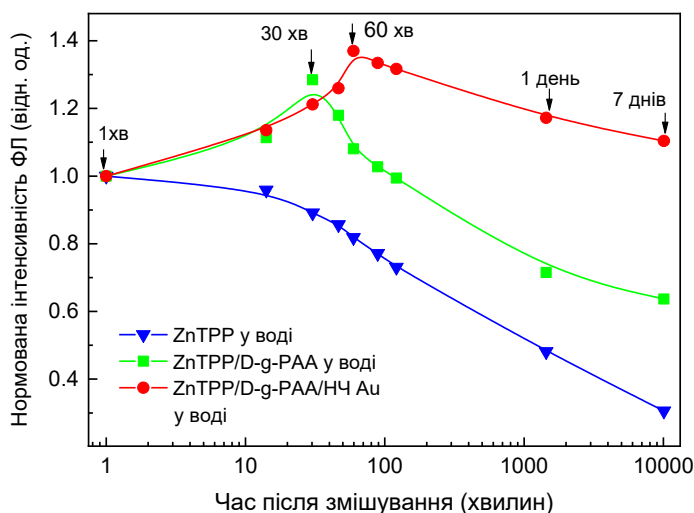


**Рис. 4.4.** Нормовані спектри фотолюмінесценції ZnTPP в етанолі та ZnTPP в етанолі, змішаному з водою, водним розчином D-g-РАА та водним розчином D-g-РАА/НЧ Au. Збудження 421 нм; концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-РАА – 0,080 г/л, Au – 0,079 г/л.

Подібно до поглинання, змішування ZnTPP в етанолі з водою призводить до значної трансформації спектру ФЛ, рис. 4.4. На рис. 4.4 спектри нормовані за інтенсивністю, щоб краще побачити зміни у формі спектра, що виникають внаслідок змішування. Після змішування інтенсивність ФЛ різко зменшується у 8,5 разів. Інтенсивність смуги  $F_{00}$  значно зменшується порівняно з  $F_{01}$ . Смуга  $F_{01}$  зміщується в бік нижчих енергій на 9 нм. Оскільки молекули ZnTPP є гідрофобними, спостережувані зміни в спектрі ФЛ, найімовірніше, спричинені їх агрегацією у водному середовищі. Висновок про агрегацію ZnTPP у воді узгоджується з результатами ДРС, які показують існування агрегатів ZnTPP радіусом 32 нм у воді. Змішування ZnTPP з водним розчином D-g-РАА призводить до подальшого зменшення інтенсивності смуги  $F_{00}$  порівняно зі змішуванням з чистою водою, рис. 4.4. У свою чергу, спектр ФЛ ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au трансформується порівняно зі спектром ZnTPP у етанолі, рис. 4.4, але трансформація значно менша, ніж та, що відбувається при змішуванні ZnTPP з водою та водним розчином D-g-РАА. Таким чином, трансформації спектру ФЛ відрізняються для ZnTPP у воді, водних розчинах D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au. Таким чином, молекули ZnTPP взаємодіють з D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au, і НЧ Au впливають на цю взаємодію.

Для перевірки припущення про зв'язування молекул ZnTPP з макромолекулами D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au було виміряно анізотропію ФЛ  $r$ . Для ZnTPP в етанолі  $r = 0,7\%$ , що вказує на те, що молекули ZnTPP в етанолі рухаються вільно. Однак, для ZnTPP у воді  $r = 10\%$ . Це відображає зменшення кількості ступенів свободи молекул, що спричинене гідрофобною взаємодією молекул фотосенсибілізатора з водою. Для водного розчину ZnTPP/D-g-РАА  $r$

= 17%, що вказує на зв'язування молекул ZnTPP з макромолекулою полімеру D-g-РАА. Для водного розчину ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au  $r = 24\%$ , що вказує на те, що зв'язування молекул ZnTPP відбувається найефективніше з гібридними макромолекулами, що містять НЧ Au. Вимірювання анізотропії ФЛ проводилися за таких концентрацій: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-РАА – 0,080 г/л, Au – 0,079 г/л.

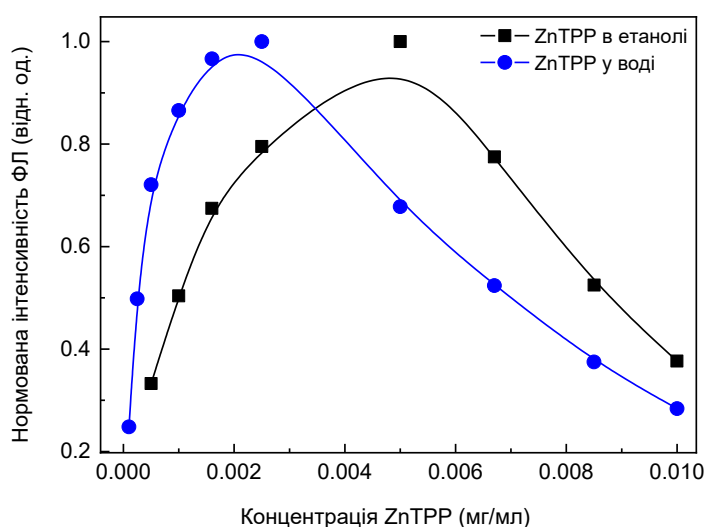


**Рис. 4.5.** Залежність нормованої інтенсивності ФЛ ZnTPP від часу, що минув після змішування з водою, водним розчином D-g-РАА та водним розчином D-g-РАА/НЧ Au. Інтенсивність ФЛ нормована до відповідного значення через 1 хвилину після змішування. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-РАА – 0,080 г/л, Au – 0,079 г/л. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.

#### 4.1.3 Часова залежність фотолюмінесценції гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au

Поведінка спектру ФЛ ZnTPP також була досліджена залежно від часу після змішування ZnTPP в етанолі з водою та водними розчинами наногібридів D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au. Отримані часові залежності інтенсивності ФЛ показано на рис. 4.5. Через 7 днів після змішування інтенсивність ФЛ з часом

зменшується для ZnTPP у воді до 0,31 порівняно з початковим значенням, прийнятим за 1, рис. 4.5. Таке гасіння ФЛ є результатом окислення молекул ZnTPP. В той же час, змішування розчину ZnTPP в етанолі з водними розчинами D-g-РАА та гібридних макромолекул D-g-РАА/НЧ Au спочатку призводить до збільшення інтенсивності ФЛ з подальшим падінням інтенсивності ФЛ, яке спостерігається для водного розчину ZnTPP. Найімовірніше, початкове збільшення ФЛ зумовлене зв'язуванням молекул ZnTPP з макромолекулами D-g-РАА та гібридних макромолекул D-g-РАА/НЧ Au. Через 7 днів після змішування інтенсивність ФЛ зменшується до 0,64 для ZnTPP/D-g-РАА та залишається в 1,1 рази більшою для гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au порівняно з початковими значеннями. Таким чином, зв'язування молекул ZnTPP з макромолекулами D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au запобігає їх окисненню. Більше того, враховуючи, що час наростання інтенсивності ФЛ для гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au (60 хв) більший, ніж для ZnTPP/D-g-РАА (30 хв), та що інтенсивність ФЛ через 7 днів після змішування значно вища для гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au, ніж для ZnTPP/D-g-РАА, можна зробити висновок, що присутність наночастинок Au в наносистемі додатково сприяє захисту молекул фотосенсибілізатора від окислення.



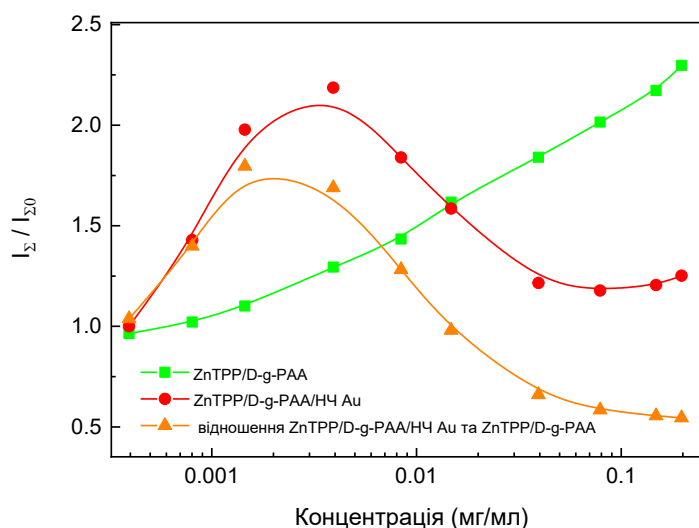
**Рис. 4.6.** Залежність нормованої інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції від концентрації ZnTPP для ZnTPP в етанолі та ZnTPP в етанолі, змішаному з водою. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.

#### **4.1.4 Концентраційна залежність фотолюмінесценції гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au**

Для визначення механізмів взаємодії ZnTPP з D-g-РАА та наночастинками Au та її впливу на електронні процеси в молекулах ZnTPP було проаналізовано залежність оптичних властивостей гібридної наносистеми від концентрації її компонентів. Спочатку було досліджено залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP в етанолі та в його суміші з водою від концентрації ZnTPP, рис. 4.6. Для розчину ZnTPP в етанолі було отримано немонотонну залежність інтенсивності ФЛ, рис. 4.6. А саме, інтенсивність ФЛ зростає зі збільшенням концентрації, досягаючи максимуму при концентрації 0,005 г/л, а потім зменшується при подальшому збільшенні концентрації. Очевидно, що агрегація молекул ZnTPP при високих концентраціях є причиною немонотонної залежності. Що стосується розчину ZnTPP в етанолі, концентраційна залежність для водного розчину ZnTPP є немонотонною з максимумом 0,0025 г/л, рис. 4.6. Нижчу максимальну концентрацію для ZnTPP у воді можна пояснити гідрофобністю молекул ZnTPP, що сприяє агрегації. Тому в наступних вимірюваннях використовувалася концентрація ZnTPP 0,001 г/л, що відповідає середині лінійної області зростаючої частини концентраційної залежності для ZnTPP у воді. Ця концентрація досить низька, що забезпечує відсутність агрегації.

Були досліджені залежності інтегральної інтенсивності ФЛ ZnTPP від концентрації полімеру та наночастинок Au в гібридних макромолекулах ZnTPP/D-g-РАА та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au, рис. 4.7. На рис. 4.7 інтенсивність ФЛ для різних концентрацій нормована до значення інтенсивності ФЛ для

ZnTPP у воді. Через значне спектральне перекриття спектру поглинання наночастинок Au та спектру фотолюмінесценції ZnTPP, рис. 4.3 (б) та рис. 4.4, наночастинок Au частково поглинають фотони фотолюмінесценції ZnTPP. Тому виміряна інтенсивність фотолюмінесценції ФЛ ослаблюється як  $I(\lambda) = I_0(\lambda) \cdot 10^{-D(\lambda)}$ , де  $I_0(\lambda)$  – реальна інтенсивність ФЛ, а  $D(\lambda)$  – оптична густина зразка, пов'язана з поглинанням світла наночастинками Au. Таким чином, реальна інтенсивність ФЛ, яка представлена на рис. 4.7 кружечками, була розрахована як  $I_0(\lambda) = 10^{D(\lambda)} \cdot I(\lambda)$ , де всі значення взяті при відповідних концентраціях золота.



**Рис. 4.7.** Концентраційна залежність нормованої інтегральної інтенсивності ФЛ ZnTPP в етанолі, змішаному з водними розчинами D-g-РАА та D-g-РАА/НЧ Au. Трикутники показують співвідношення відповідних концентраційних залежностей для ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА, що характеризують вплив наночастинок Au на поглинання та фотолюмінесценцію ZnTPP у потрібній гібридній наносистемі. Інтенсивність ФЛ нормована до відповідного значення для ZnTPP у воді. Квадрати представляють залежність від концентрації полімеру, кола та трикутники – залежність від концентрації золота. Концентрація ZnTPP – 0,001 г/л. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.

Було виявлено, що збільшення концентрації D-g-РАА в діапазоні 0–0,2 г/л призводить до монотонного збільшення інтенсивності фотолюмінесценції для ZnTPP/D-g-РАА у 2,3 рази, рис. 4.7. Така виражена залежність підтверджує вищезгаданий висновок про зв'язування молекул ZnTPP з макромолекулами D-g-РАА. Тим часом, залежність інтенсивності ФЛ для розчину ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au від концентрації Au є немонотонною, рис. 4.7. ФЛ збільшується в 2,2 рази при концентраціях Au 0–0,004 г/л, досягає максимуму та зменшується до 1,25 при збільшенні концентрації Au до 0,2 г/л. На фотолюмінесценцію молекул ZnTPP у наносистемі ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au впливають як полімер, так і НЧ Au. Внесок наночастинок Au був визначений шляхом ділення концентраційної залежності для гібридних макромолекула ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au на відповідну залежність для ZnTPP/D-g-РАА, рис. 4.7. Інтенсивність ФЛ збільшується в 1,8 рази в діапазоні концентрації Au 0–0,002 г/л, досягає максимуму, а потім зменшується до 0,5 при подальшому збільшенні концентрації до 0,2 г/л. Сильна залежність інтенсивності ФЛ від концентрації Au вказує на те, що молекули ZnTPP та наночастинок Au просторово близько розташовані всередині макромолекули D-g-РАА завдяки зв'язуванню молекул фотосенсибілізатора з макромолекулою D-g-РАА/НЧ Au.

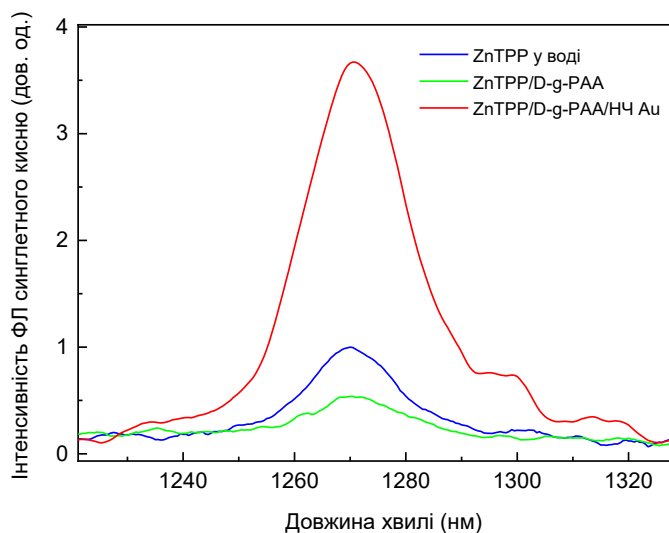
Найбільш імовірні механізми, що спричиняють вплив наночастинок Au на фотолюмінесценцію ZnTPP, рис. 4.7, наступні. Зміна концентрації золота у зразку змінює середню відстань між наночастинками Au та молекулами ZnTPP, зв'язаними з макромолекулою полімеру. Зміна відстані призводить до зміни інтенсивності взаємодії поверхневих плазмонів у наночастинках металу з електронними збудженнями в молекулах фотосенсибілізатора [44–49]. Крім того, на силу взаємодії впливає спектральне перекриття ППР у наночастинках металу та електронного енергетичного спектру молекули. Менша відстань та/або більше спектральне перекриття призводить до сильнішої взаємодії. Як зазначалося вище, у гібридних макромолекулах ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au середня відстань між молекулами ZnTPP та наночастинками Au досить мала. Крім того, існує значне спектральне перекриття між ППР у наночастинках Au,

рис. 4.3 (б), та спектрами поглинання (рис. 4.3) та ФЛ (рис. 4.4) молекул ZnTPP. Отже, варто очікувати сильного зв'язку ZnTPP – наночастинки Au для системи ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au. Два конкуруючі фізичні механізми визначають залежність інтенсивності фотолюмінесценції молекули від відстані між молекулою та наночастинками металу. Перший механізм – це плазмонне підсилення, яке посилюється зі скороченням відстані між молекулою та наночастинкою металу [17, 22, 7, 66-68]. Амплітуда плазмонного поля збільшується зі скороченням відстані від наночастинки металу як  $R^{-3}$  [68]. Другий – резонансне безвипромінювальне перенесення енергії, імовірно – Фьорстерівське резонансне перенесення енергії (FRET, Förster Resonance Energy Transfer). При FRET енергія збудженого донора (молекули) передається безвипромінювально до акцептора (наночастинка металу) через диполь-дипольний взаємодію [17, 22, 7, 68, 69], що призводить до гасіння ФЛ. Інтенсивність FRET залежить від відстані донор-акцептор як  $\gamma_{FRET} \propto R^{-6}$  [69]. Це обмежує передачу енергії через механізм FRET діапазоном відстаней менше 10 нм. Наслідком впливу цих двох конкуруючих механізмів на інтенсивність ФЛ є існування оптимальної відстані між молекулою та наночастинками металу (близько 10 нм), яка забезпечує найвищу інтенсивність ФЛ [7]. На відстанях менше 10 нм невелике зменшення відстані викликає значне гасіння ФЛ. На відстанях більше 10 нм зменшення відстані викликає підсилення ФЛ.

Отже, можна побачити що низькі концентрації золота в діапазоні 0–0,002 г/л забезпечують відстань між НЧ Au та молекулами ZnTPP, яка є великою для FRET. Отже, в цьому діапазоні концентрацій збільшення концентрації золота призводить до сильнішого плазмонного підсилення. При концентраціях золота вище 0,002 г/л відстань між НЧ Au та молекулами ZnTPP достатньо мала, щоб запустити процес FRET. Це призводить до сильнішого гасіння ФЛ при збільшенні концентрації Au. Таким чином, існує оптимальна концентрація Au, при якій відбувається найсильніше плазмонне підсилення електронних процесів у молекулах ZnTPP.

#### **4.1.5 Фотогенерація синглетного кисню гібридними наносистемами ZnTPP/D-g-PAA та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au**

Важливою характеристикою ефективності деякої молекулярної системи для використання у фотодинамічній терапії є ефективність фотогенерації активних форм кисню (синглетного кисню). Відповідні дослідження були проведені для водних розчинів досліджуваних гібридних наносистем. На рис. 4.8 представлені вимірні спектри випромінювання синглетного кисню для водних розчинів наносистем ZnTPP/D-g-PAA та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au, а також еталонний спектр ZnTPP у воді. У всіх спектрах достовірно спостерігається пік випромінювання, характерний для синглетного O<sub>2</sub> з максимумом близько 1270 нм [70]. Спектри випромінювання синглетного кисню були виявлені для досліджуваних зразків при збудженні світлом з довжиною хвилі 421 нм (смуга Core), 553 нм та 595 нм (діапазон Q смуг). При збудженні 421 нм та 595 нм інтенсивність піків приблизно однакова для ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAA та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au. Також, при збудженні водних розчинів ZnTPP та ZnTPP/D-g-PAA світлом 553 нм, інтенсивність піків близька до відповідних значень, отриманих для довжин хвиль збудження 421 нм та 595 нм. Однак, при збудженні розчину гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au світлом 553 нм, спостерігається значне (3,2-кратне) зростання інтенсивності піку синглетного кисню. Враховуючи, що довжина хвилі 553 нм майже резонансна з ППР в наночастинках Au (520 нм), логічно зробити висновок, що таке підсилення фотогенерації синглетного кисню має плазмонну природу. Таким чином, спостережуване плазмонне підсилення фотогенерації синглетного кисню гібридною наносистемою ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au вказує на її перспективність для фотодинамічної терапії.



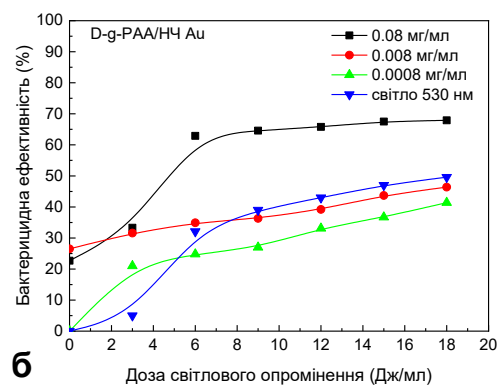
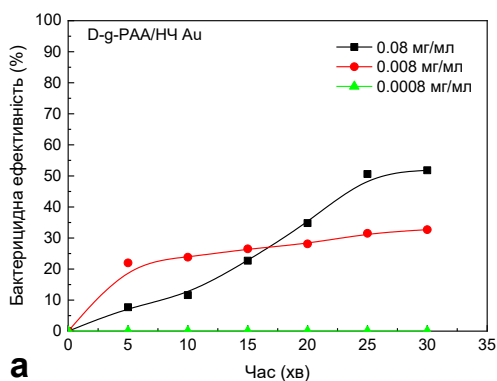
**Рис. 4.8.** Спектри випромінювання синглетного кисню розчином ZnTPP у воді, а також у водних розчинах ZnTPP/D-g-PAA та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au. Збудження 553 нм; концентрації: ZnTPP – 0,01 г/л, D-g-PAA – 0,080 г/л, Au – 0,079 г/л.

#### 4.1.6 Бактерицидний ефект досліджуваних гібридних наносистем ZnTPP/D-g-PAA та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au

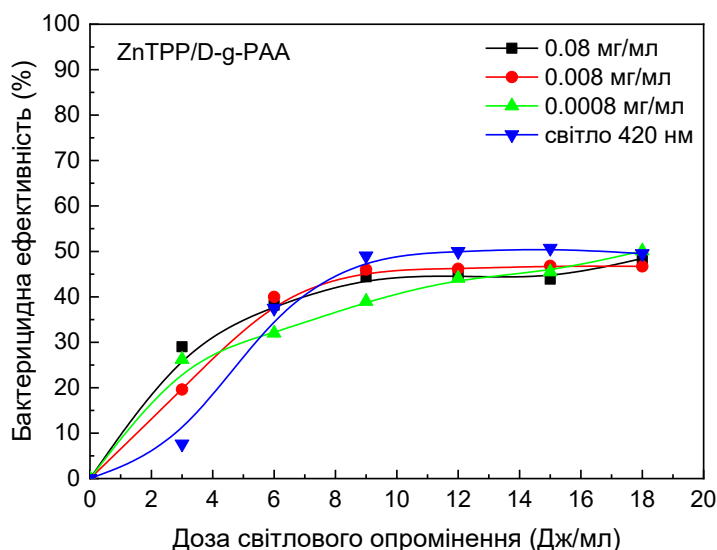
Бактерицидного ефекту для D-g-PAA та ZnTPP при досліджуваних концентраціях виявлено не було. Відомо, що наночастинки золота мають антибактеріальну дію [71]. Інкубація суспензії золотистого стафілококу (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) з наносистемами D-g-PAA/НЧ Au у концентраціях 0,08 та 0,008 г/л протягом 30 хвилин зменшила кількість КУО на 50% та 30% відповідно, рис. 4.9 (а). Інактивація КУО можлива завдяки проникненню наночастинок золота в клітини та блокуванню критичних біохімічних процесів, таких як синтез білка або АТФ [72]. Менша кількість наноконструкції не має бактерицидного ефекту.

Опромінення суспензії світлом 530 нм інактивує 30% КУО у дозі 6 Дж/мл. Ефект зумовлений наявністю похідних порфірину, які є внутрішньоклітинними фотосенсибілізаторами [73]. Лише висока

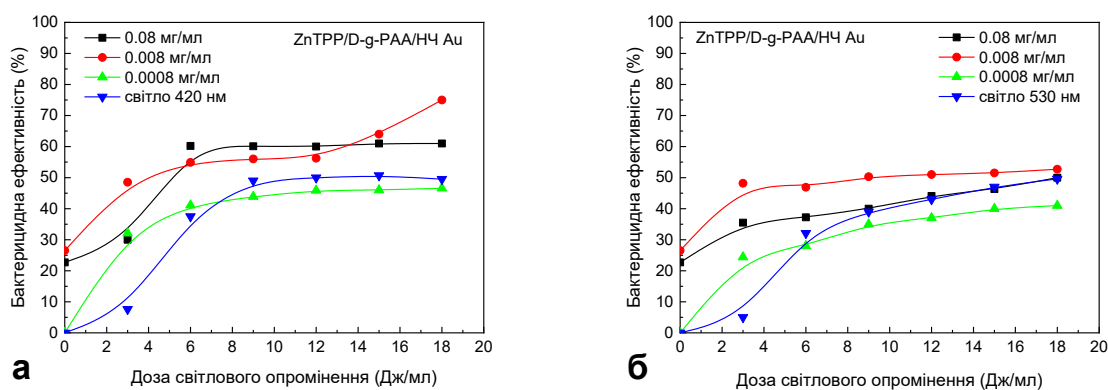
концентрація D-g-РАА/НЧ Au 0,08 г/л значно підвищує ефективність опромінення до 65% інактивації КУО, рис. 4.9 (б). Ефекти опосередковуються здатністю наночастинок Au ініціювати генерацію вільних радикалів, включаючи синглетний кисень. Такий результат узгоджується з вищезгаданим результатом посилення генерації синглетного кисню наноконкомпозитом, що містить наночастинок Au, який, найімовірніше, має плазмонну природу. Додавання ZnTPP/D-g-РАА до суспензії *S. aureus* не змінює антибактеріальну активність опромінення світлом 420 нм, рис. 4.10. Опромінення світлом у дозі 3 Дж/мл сприяє швидшій інактивації КУО у присутності фотосенсибілізатора. На процес не впливала концентрація D-g-РАА. Бактерицидна дія гібридних наносистем ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au при опроміненні світлом 420 нм має високу ефективність при дозі 3 Дж/мл. Кількість КУО зменшується на 30% для концентрацій золота 0,08 і 0,0008 г/л та на 50% для 0,008 г/л, рис. 4.11 (а). Результати вказують на важливість співвідношення компонентів у наноконкомпозиті. Варто зазначити, що при концентрації наночастинок Au 0,008 г/л, можливо, відбувалися два паралельні процеси. Для них достатньо дози світлового опромінення 3 Дж/мл. Інші реакції, що супроводжують взаємодію фотосенсибілізатора та золота, потребують більше енергії. Це також інактивує бактерії, але вимагає більшого світлового опромінення. Подібні результати були отримані, коли бактеріальна суспензія опромінювалася світлом 530 нм, рис. 4.11 (б). Таким чином, оптимальна концентрація наночастинок Au становить 0,008 г/л.



**Рис. 4.9.** Інактивація *S. aureus* у суспензії залежно від часу, що минув після додавання D-g-РАА/НЧ Au (а) та дози світлового опромінення 530 нм (б). Концентрації: наночастинки Au – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л. Потужність світла становила 0,1 Дж/с, доза опромінення була в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.

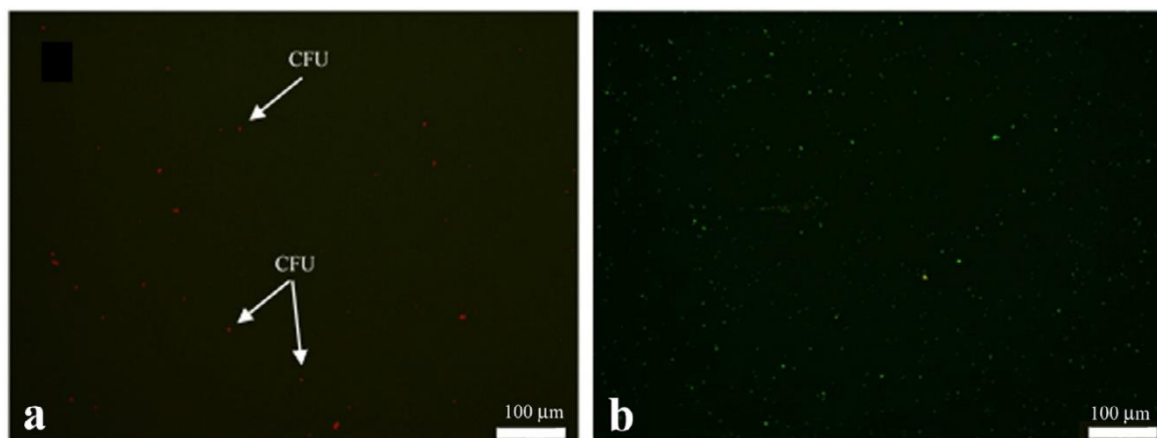


**Рис. 4.10.** Інактивація *S. aureus* у суспензії після додавання ZnTPP/D-g-РАА та опромінення світлом 420 нм залежно від дози опромінення. Концентрації: D-g-РАА – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л. Потужність світла становила 0,1 Дж/с, доза опромінення була в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.



**Рис. 4.11.** Інактивація *S. aureus* у суспензії після додавання ZnTPP/D-g-

РАА/НЧ Au та опромінення світлом 420 нм **(а)** та 530 нм **(б)** залежно від дози опромінення. Концентрації: наночастинки Au – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л. Потужність світла становила 0,1 Дж/с, доза опромінення була в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.



**Рис. 4.12.** Фотолюмінесценція КУО *S. aureus* після додавання наноконструкції ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au **(а)** та фарбування акридиновим оранжевим **(б)**. Концентрації: наночастинки Au – 0,008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л, акридиновий оранжевий –  $3,5 \cdot 10^{-3}$  М. Параметри фото: час експозиції – 100 мс **(а)**, 15 мс **(б)**, довжина хвилі збудження – 435-480 нм (синій оптичний фільтр).

Червона фотолюмінесценція КУО була виявлена після додавання 0,008 г/л наноконструкції ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au, рис. 4.12(а). Така фотолюмінесценція є світловим випромінюванням молекул фотосенсибілізатора, що проникли в бактеріальні клітини у складі наноконструкції ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au. Опромінення синім світлом через широкопалетковий світлофільтр флуоресцентного мікроскопа сприяє появі червоної люмінесценції, яка зникає через 3-5 хвилин. Кількість таких КУО становить незначну частку від загальної кількості, рис. 4.12 (б). Виявлена бактерицидна активність розчинів наших наносистем реєструвалася протягом короткого часу, який не перевищує 20 хвилин. Тому водні розчини ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au придатні для швидкого зменшення популяції КУО у відкритих ранах.

## 4.2 Плазмонне підсилення антибактеріальної фотодинамічної ефективності гібридних наносистем “аніонний полімер декстран-поліакриламід – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”

### 4.2.1 Дослідження систем D-g-РААan, ZnTPP, ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au за допомогою методу динамічного розсіювання світла

На рис. 4.13 представлені розподіли за розмірами частинок для водних розчинів D-g-РААan, ZnTPP, ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au. Для аналізу на стабільність водних розчинів зазначених систем були виконані вимірювання методом динамічного розсіювання світла розчинів ZnTPP, ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au через 1 хв, 1 год, 24 год та 7 днів після виготовлення (змішування). Розподіл частинок за розміром розчину D-g-РААan має один пік на значенні гідродинамічного радіусу  $R_H = 42$  нм, рис. 4.13 (а). Агрегати з  $R_H = 32$  нм спостерігалися у випадку ZnTPP через його погану розчинність у воді, рис. 4.13 (б), чорна лінія.

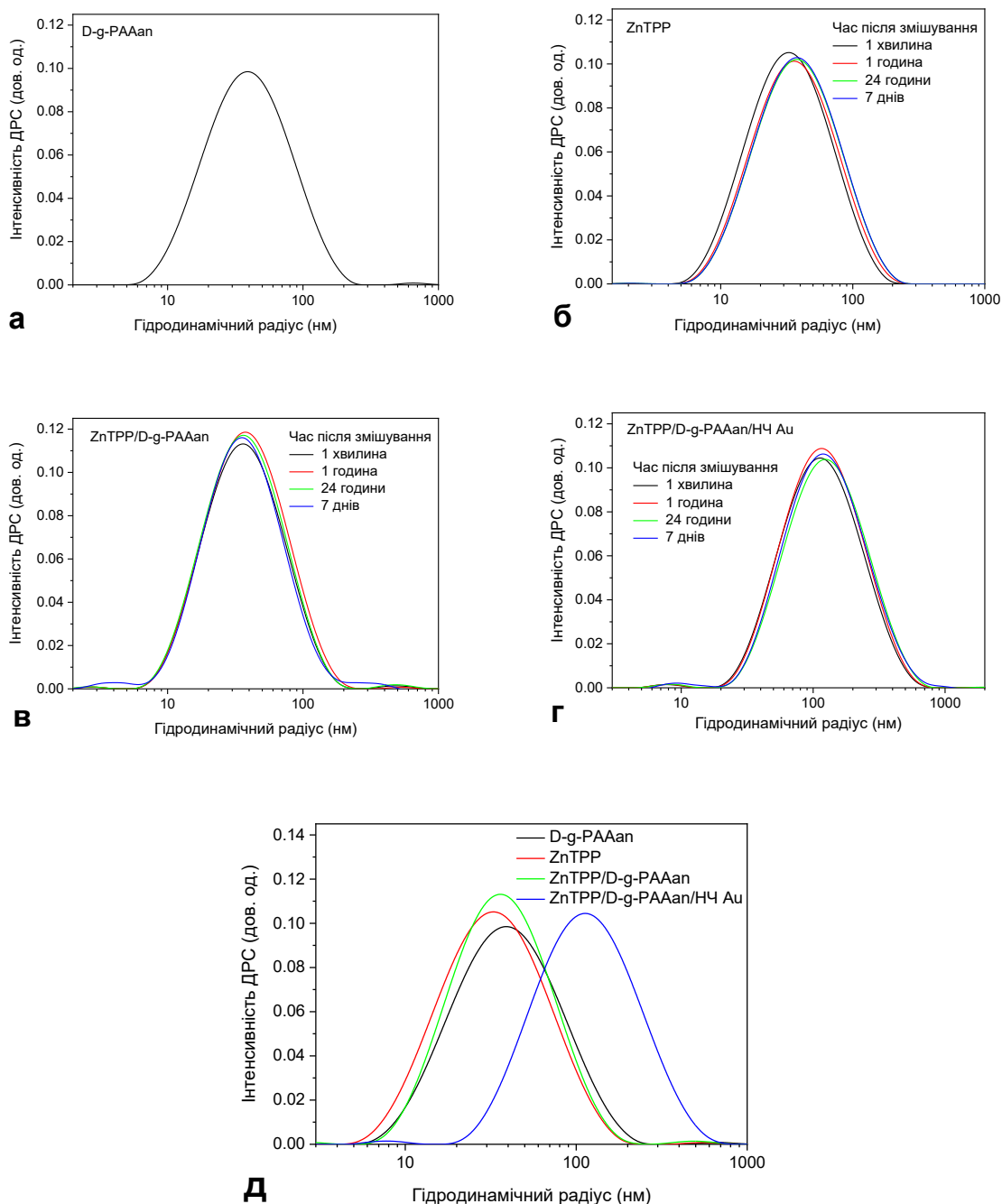
Як показано на рис. 4.13 (б), розподіл за розмірами частинок водного розчину ZnTPP суттєво не змінився впродовж часу спостереження. Лише через 7 днів пік дещо змістився до вищого значення гідродинамічного радіуса. Суміш ZnTPP та D-g-РААan має розподіл частинок за розмірами, подібний до вільного D-g-РААan та ZnTPP, з максимумом на 38 нм, рис. 4.13 (в), чорна лінія, що було очікувано, враховуючи близькі значення гідродинамічного радіуса окремих компонентів розчину. Також ZnTPP/D-g-РААan виявилися стабільними до агрегації та седиментації, зі значеннями гідродинамічного радіуса 38–41 нм впродовж часу спостереження. Слід зазначити, що для цієї системи протягом 24 годин спостерігалася незначна агрегація. Неочікувано, через 7 днів спостерігалася додаткова фракція дрібних частинок,  $R_H = 4$  нм.

Розподіл за розмірами частинок трикомпонентної наносистеми ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au має два піки на  $R_H = 8$  нм та 116 нм, рис. 4.13 (г), чорна лінія. Перший максимум відповідає наночастинкам Au, а другий – гібридній наносистемі ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au. Слід зазначити, що, незважаючи на низьку інтенсивність піку наночастинок Au в розподілі за розмірами, побудованому за інтенсивністю розсіяного світла, відносна кількість наночастинок Au дуже висока, оскільки, згідно з теорією Релеївського розсіяння, інтенсивність розсіяння пропорційна  $R_H^6$ . Змін у розподілі частинок за розмірами для системи ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au впродовж перших 7 днів після приготування не спостерігалось, рис. 4.13 (г), червона, зелена та синя криві. Розподіл за розмірами для всіх систем, що розглядаються в цьому розділі, показано на рис. 4.13 (д) для полегшення прямого порівняння.

#### **4.2.2 Спектральні прояви зв'язування молекул фотосенсибілізатора ZnTPP з полімерними макромолекулами D-g-PAAan та D-g-PAAan/НЧ Au**

Вимірювання спектрів поглинання проводилося з використанням розчину фотосенсибілізатора ZnTPP в етанолі як еталону, а також проводився аналіз ZnTPP, змішаного з водою та розчинами на водній основі полімеру D-g-PAAan та гібридної наносистеми D-g-PAAan/НЧ Au, як показано на рис. 4.14. Спектр поглинання ZnTPP в етанолі, рис. 4.14 (а), чорна лінія, має типову для порфіринів в органічному розчиннику структуру. А саме, присутні слабкі довгохвильові (530–620 нм) Q-смуги та інтенсивна короткохвильова (380–440 нм) B-смуга (смуга Core), що походять від переходів  $S_0 \rightarrow S_1$  та  $S_0 \rightarrow S_2$  з основного стану  $\pi$ -електрона до 1-го та 2-го збуджених  $\pi$ -електронних станів молекул порфірину відповідно [62–65]. Q- та B-смуги мають багатоконпонентну структуру, що відображає коливальну структуру збуджених електронних станів. Перехід  $S_0 \rightarrow S_1$  слабо дозволений, а перехід  $S_0 \rightarrow S_2$  сильно дозволений правилами відбору, що зумовлює низьку

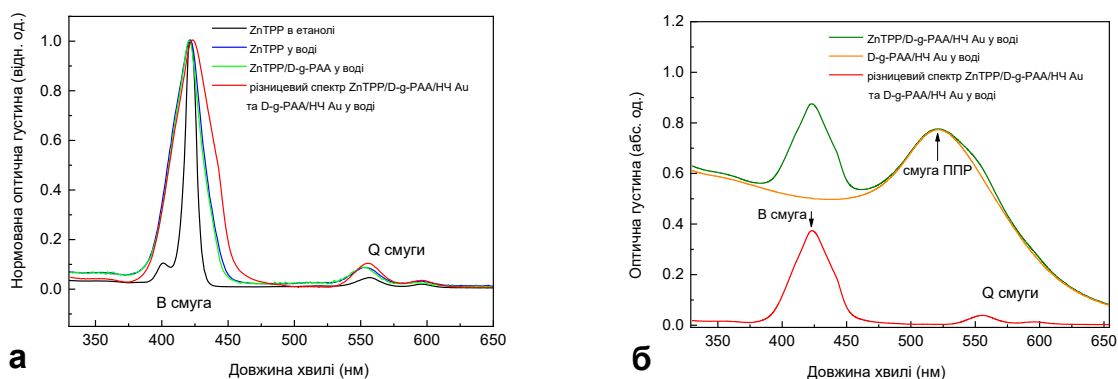
інтенсивність Q-смуг та високу інтенсивність В-смуги в спектрі. Тим часом, спектр поглинання гібридної системи D-g-PAAan/НЧ Au показує чітку смугу ППР від Au НЧ з центром на 520 нм, як видно на рис. 4.14 (б) (помаранчева лінія). Спектри поглинання та ФЛ полімеру D-g-PAAan розташовані в УФ-діапазоні, поза спектральним діапазоном, актуальним для нашої роботи.



**Рис. 4.13.** (а) Розподіл частинок за розмірами для водного розчину D-g-PAAan. Розподіл частинок за розмірами для свіжоприготованих (1 хв) водних розчинів

та цих розчинів через 1 год, 24 год та 7 днів: **(б)** ZnTPP, **(в)** ZnTPP/D-g-РААan та **(г)** ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au. **(д)** Розподіл частинок за розмірами для свіжоприготованих D-g-РААan, ZnTPP, ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au водних розчинів.

Змішування розчину ZnTPP в етанолі з водою призводить до суттєвих змін інтенсивності та форми спектра поглинання, як видно на рис. 4.14 (а) (синя лінія). На рис. 4.14 (а) спектри нормовані за інтенсивністю, щоб краще побачити зміни форми спектрів, що відбуваються при змішуванні. При змішуванні інтегральна інтенсивність В-смуги різко зменшується (у 2,5 рази). Одночасно В-смуга значно розширюється, і її дублетна структура зникає. Тим часом, відносна інтенсивність слабких Q-смуг зростає. Оскільки ZnTPP нерозчинний у воді, найімовірніше, що трансформація спектра поглинання зумовлена агрегацією гідрофобних молекул ZnTPP у водному середовищі. Таке припущення про агрегацію ZnTPP узгоджується з даними, отриманими з використанням методу динамічного розсіяння світла, що свідчить про існування у воді агрегатів молекул ZnTPP з гідродинамічним радіусом 32 нм. Змішування розчину ZnTPP в етанолі з водними розчинами D-g-РААan та D-g-РААan/НЧ Au не призводить до будь-яких помітних змін у формі спектра поглинання порівняно з випадком ZnTPP, змішаного з водою. Оскільки спектри ZnTPP та НЧ Au значно перекриваються, для зручності аналізу трансформації спектра ZnTPP при змішуванні, був проаналізований різницевий спектр ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au та D-g-РААan/НЧ Au, як показано на рис. 4.14 (а) та рис. 4.14 (б) (червоні лінії).



**Рис. 4.14.** (а) Нормовані спектри поглинання ZnTPP в етанолі та ZnTPP в етанолі, змішаному з водою та водним розчином D-g-PAAan, а також різницевий спектр між розчинами ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au та D-g-PAAan/НЧ Au. (б) Нормовані спектри поглинання розчину ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au та D-g-PAAan/НЧ Au та різницевий спектр розчинів ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au та D-g-PAAan/НЧ Au. Різницевий спектр представлено для віднімання поглинання НЧ Au. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л; D-g-PAAan – 0,080 г/л; Au – 0,079 г/л.

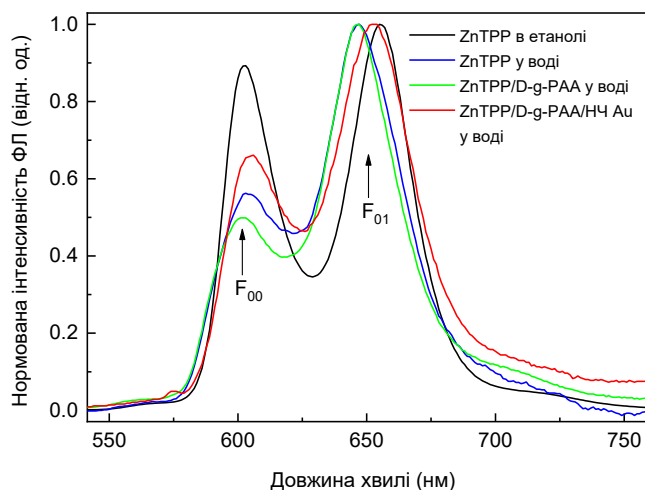
Спектри ФЛ були виміряні для ZnTPP в етанолі та для сумішей ZnTPP в етанолі з водою та водними розчинами D-g-PAAan та D-g-PAAan/НЧ Au, як показано на рис. 4.15. Спектр ФЛ ZnTPP в етанолі, рис. 4.15, чорна лінія, показує типову структуру для порфіринів в органічному розчиннику. А саме, у спектрі домінують дві смуги: короткохвильова (602 нм) та довгохвильова (655 нм) смуги, позначені як  $F_{00}$  та  $F_{01}$  відповідно. Смуги  $F_{00}$  та  $F_{01}$  походять від випромінювальних переходів  $S_1(0) \rightarrow S_0(0)$  та  $S_1(0) \rightarrow S_0(1)$  з основного коливального рівня 1-го збудженого стану  $\pi$ -електрона на основний та 1-й збуджений коливальні рівні основного стану  $\pi$ -електрона молекули порфірину відповідно [63,64].

Подібно до змін у спектрі поглинання, змішування ZnTPP з водою призводить до чітких змін інтенсивності та форми спектра ФЛ, як видно на рис. 4.15 (синя лінія). На рис. 4.15 спектри нормовані за інтенсивністю, щоб

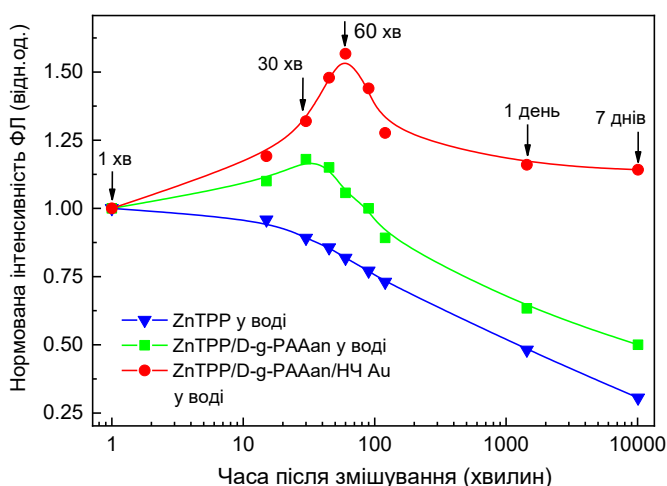
краще побачити зміни форми спектрів, що відбуваються при змішуванні. При змішуванні інтегральна інтенсивність ФЛ різко гаситься у 8,5 рази. Іntenсивність смуги  $F_{00}$  значно зменшується відносно інтенсивності смуги  $F_{01}$ . Смуга  $F_{01}$  зміщується в довгохвильовий бік спектру на 9 нм. Оскільки ZnTPP нерозчинний у воді, як зазначалося вище, найімовірніше, що спостережувані зміни в спектрі ФЛ зумовлені агрегацією гідрофобних молекул ZnTPP у водному середовищі. Далі, змішування ZnTPP з водним розчином полімеру D-g-РААan призводить до подальшого зменшення інтенсивності смуги  $F_{00}$  порівняно з випадком ZnTPP, змішаного з водою, як показано на рис. 4.15 (зелена лінія). Нарешті, червона лінія на рис. 4.15 показує спектр ФЛ ZnTPP, змішаного з водним розчином D-g-РААan/НЧ Au. Видно, що спектр ФЛ ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au трансформується порівняно з випадком ZnTPP в етанолі, але ці трансформації суттєво слабші, ніж ті, що спостерігаються для ZnTPP у воді та ZnTPP у розчині D-g-РААan на водній основі. Таким чином, перетворення спектру ФЛ відрізняються одне від одного для ZnTPP у воді та у водних розчинах D-g-РААan та D-g-РААan/НЧ Au. Відповідно, виходячи з даних ФЛ, можна зробити висновок, що молекули ZnTPP взаємодіють з макромолекулами D-g-РААan та D-g-РААan/НЧ Au, і що ця взаємодія відрізняється за наявності та відсутності НЧ Au.

Припущення про зв'язування молекул ZnTPP та макромолекул D-g-РААan та D-g-РААan/НЧ Au було перевірено безпосередньо шляхом вимірювання коефіцієнта анізотропії ФЛ  $r$ , який характеризує ступінь свободи молекул під час їхнього руху. Коефіцієнт анізотропії для ZnTPP в етанолі був отриманий рівним 0,7%, що свідчить про вільний рух ZnTPP в етанолі. Однак для ZnTPP у воді значення  $r$  становить 10%, що вказує на зменшення ступеня свободи руху молекул ZnTPP через їх гідрофобну взаємодію з водним середовищем. Змішування ZnTPP з водним розчином D-g-РААan призводить до подальшого збільшення коефіцієнта анізотропії ФЛ до 20%, що доводить факт зв'язування молекул ZnTPP з макромолекулами полімеру. Зрештою, значення  $r$  для ZnTPP, змішаного з водним розчином D-g-РААan/НЧ Au,

дорівнює 36%, що вказує на те, що молекули ZnTPP найсильніше зв'язуються з гібридними макромолекулами, що містять наночастинки Au. Вимірювання коефіцієнта анізотропії  $r$  проводили за таких концентрацій: ZnTPP – 0,001 г/л; D-g-РААan – 0,080 г/л; Au – 0,079 г/л.



**Рис. 4.15.** Нормовані спектри фотолюмінесценції ZnTPP в етанолі та ZnTPP в етанолі, змішаному з водою, і водними розчинами D-g-РААan та D-g-РААan/НЧ Au. Збудження: 421 нм; концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л; D-g-РААan – 0,080 г/л; Au – 0,079 г/л.



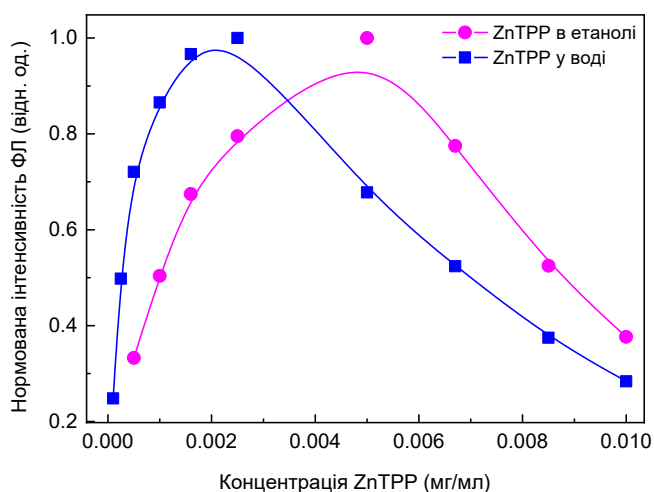
**Рис. 4.16.** Залежність нормованої інтенсивності ФЛ ZnTPP від часу після змішування з водним розчином D-g-РААan (квадрати) та водним розчином D-

g-РААап/НЧ Au (кола). Інтенсивність ФЛ нормована до відповідних значень через 1 хвилину після змішування. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л; D-g-РААап – 0,080 г/л; Au – 0,079 г/л. Експериментальні точки інтерпольовані сплайнами для зручності.

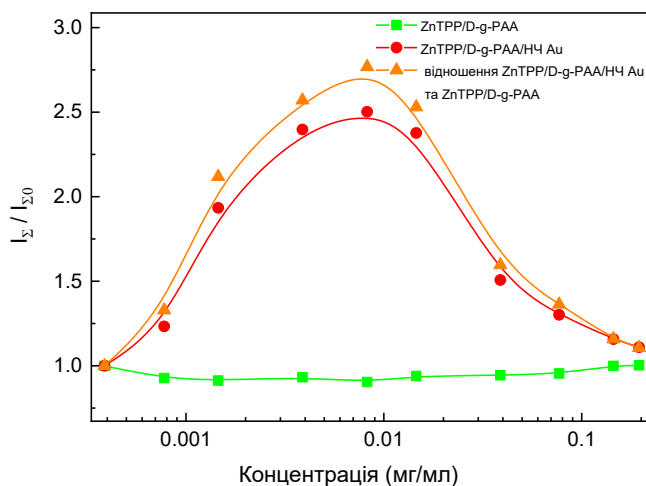
#### **4.2.3 Часова залежність спектрів фотолюмінесценції систем ZnTPP/D-g-РААап та ZnTPP/D-g-РААап/НЧ Au**

Було досліджено поведінку інтегральної інтенсивності ФЛ ZnTPP з часом після змішування ZnTPP в етанолі з водою та водними розчинами D-g-РААап та D-g-РААап/НЧ Au. Отримані результати представлені на рис. 4.16. Видно, що інтенсивність ФЛ монотонно зменшується з часом для ZnTPP у воді, рис. 4.16, трикутники) до 0,31 через 7 днів після змішування порівняно з початковим значенням. Це гасіння ФЛ зумовлене окисненням молекул ZnTPP. Тим часом, змішування ZnTPP з водними розчинами D-g-РААап (рис. 4.16, квадрати) та D-g-РААап/НЧ Au (рис. 4.16, кола) спочатку призводить до збільшення інтенсивності ФЛ, яке потім змінюється на зменшення, подібно до того, що спостерігається для ZnTPP у воді. Цілком обґрунтовано припустити, що початкове збільшення інтенсивності ФЛ зумовлене зв'язуванням молекул ZnTPP з макромолекулами D-g-РААап та D-g-РААап/НЧ Au. На 7-й день після змішування інтенсивність ФЛ ZnTPP/D-g-РААап становить 0,5, а інтенсивність FL ZnTPP/D-g-РААап/НЧ Au – 1,14 порівняно з початковими значеннями лише через 1 хв після змішування. Слід зазначити, що на 7-й день після змішування інтенсивність ФЛ ZnTPP, зв'язаного з макромолекулами ZnTPP/D-g-РААап та ZnTPP/D-g-РААап/НЧ Au, вища, ніж для вільного ZnTPP у воді. Таким чином, можна зробити висновок, що макромолекули D-g-РААап та D-g-РААап/НЧ Au захищають зв'язані з ними молекули ZnTPP від окиснення. Більше того, враховуючи, що тривалість збільшення інтенсивності ФЛ для ZnTPP/D-g-РААап/НЧ Au (близько 60 хв) більша, ніж для ZnTPP/D-g-РААап (близько 30 хв), і що інтенсивність ФЛ через 7 днів після змішування значно вища для ZnTPP/D-g-РААап/НЧ Au, ніж для ZnTPP/D-g-РААап, можна

зробити висновок, що присутність наносистеми на основі НЧ Au забезпечує значно вищу ефективність захисту молекул фотосенсибілізатора від окислення. Додатковою причиною тривалої інтенсивної ФЛ ZnTPP, зв'язаного з макромолекулами D-g-PAAan/НЧ Au, є підсилення ФЛ у плазмонному полі НЧ Au через близьке просторове розташування молекул ZnTPP та НЧ Au у внутрішньому об'ємі гібридних полімерних макромолекул.



**Рис. 4.17.** Залежність нормованої інтегральної інтенсивності фотолюмінесценції від концентрації ZnTPP для ZnTPP в етанолі та ZnTPP в етанолі, змішаному з водою. Експериментальні точки інтерпольовані сплайнами для зручності.



**Рис. 4.18.** Концентраційна залежність нормованої інтегральної інтенсивності ФЛ ZnTPP в етанолі, змішаному з водними розчинами D-g-PAAan (квадрати) та D-g-PAAan/НЧ Au (кола). Трикутники показують співвідношення відповідних концентраційних залежностей для ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAAan, що характеризує вплив наночастинок Au на поглинання та фотолюмінесценцію ZnTPP у потрійній гібридній наносистемі. Інтенсивність ФЛ нормована до відповідних значень для ZnTPP у воді. Квадрати представляють залежність від концентрації полімеру, а кола та трикутники зображують залежність від концентрації золота. Концентрація ZnTPP: 0,001 г/л. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.

#### **4.2.4 Концентраційні залежності спектрів фотолюмінесценції систем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au**

Вивчення впливу варіацій концентрацій фотосенсибілізатора, полімеру та наночастинок Au на оптичні властивості гібридної наносистеми є дуже важливим для розуміння впливу взаємодій ZnTPP з полімером та наночастинами золота на електронні процеси, пов'язані з молекулами ZnTPP у гібридній наносистемі. Спочатку був досліджений вплив концентрації ZnTPP на інтенсивність ФЛ у розчині етанолу та в суміші з водою, як показано на рис. 4.17. Видно, що залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP в етанолі (квадрати) є немонотонною; інтенсивність ФЛ зростає зі збільшенням концентрації, досягає максимуму при 0,005 г/л, а потім зменшується з подальшим збільшенням концентрації. Очевидно, що спостережувана немонотонна залежність зумовлена агрегацією молекул ZnTPP при високих концентраціях. Подібно до розчину етанолу, концентраційна залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP у суміші етанолу з водою також є немонотонною, з максимумом при нижчій концентрації 0,0025 г/л. Нижче значення концентраційно-залежного максимуму для ZnTPP у воді зумовлене гідрофобністю молекул ZnTPP, що сприяє їх агрегації за нижчих

концентрацій. Тому для подальших експериментів було обрано концентрацію ZnTPP 0,001 г/л. Це значення знаходиться в центрі лінійної області зростаючої ділянки концентраційної залежності інтенсивності ФЛ, що відповідає досить низькій концентрації, за якої агрегація не відбувається.

Також був вивчений вплив зміни концентрацій полімеру та золота на інтегральну інтенсивність ФЛ ZnTPP у наносистемах ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au, як показано на рис. 4.18. Інтенсивність ФЛ при різних концентраціях була нормована відносно інтенсивності ФЛ ZnTPP у воді. Оскільки спектр ФЛ ZnTPP та спектр поглинання наночастинок Au мають суттєве спектральне перекриття (рис. 4.14 (б) та рис. 4.15), наночастинки Au частково перепоглинають фотони фотолюмінесценції, що випромінюються молекулами ZnTPP. Відповідно, виміряну інтенсивність ФЛ  $I(\lambda)$  можна описати за допомогою співвідношення  $I(\lambda) = I_0(\lambda) \cdot 10^{-D(\lambda)}$ , де  $I_0(\lambda)$  – реальна інтенсивність ФЛ, що випромінюється молекулами ZnTPP, а  $D(\lambda)$  – оптична густина досліджуваного зразка, пов'язана з поглинанням світла наночастинками золота. Тому реальна інтенсивність ФЛ  $I_0(\lambda)$  була розрахована як  $I_0(\lambda) = 10^{D(\lambda)} \cdot I(\lambda)$ , де всі значення були взяті для відповідних концентрацій золота. Отримана нормована концентраційна залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP, зв'язаного з ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au, представлена на рис. 4.18 кружками.

Видно, що для системи ZnTPP/D-g-PAAan у всьому досліджуваному діапазоні концентрацій полімеру 0–0,2 г/л відсутня чітка залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP від концентрації полімеру, як видно на рис. 4.18 (квадрати). Тим часом, залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP в наносистемі ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au від концентрації золота має виражений немонотонний характер, як видно на рис. 4.18 (кола). Інтенсивність ФЛ зростає в 2,5 рази в діапазоні концентрацій золота 0–0,008 г/л, досягає максимуму, а потім зменшується до відносного значення 1,11 з подальшим збільшенням концентрації золота до 0,2 г/л. Незважаючи на майже повну відсутність залежності інтенсивності ФЛ ZnTPP від концентрації полімеру, для

визначення внеску Au залежність від концентрації для ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au (рис. 4.18, кола) була поділена на відповідні значення для ZnTPP/D-g-РААan (рис. 4.18, квадрати). Отримані результати показані на рис. 4.18 у вигляді трикутників. Інтенсивність ФЛ збільшується в 2,8 рази в діапазоні концентрацій золота 0–0,008 г/л, досягає максимуму, а потім зменшується до відносного значення 1,11 при подальшому збільшенні концентрації золота до 0,2 г/л. Отримана виражена залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP від концентрації золота доводить близьке просторове розташування молекул ZnTPP та НЧ Au в об'ємі макромолекул D-g-РААan, що має місце завдяки зв'язуванню молекул фотосенсибілізатора з макромолекулами D-g-РААan/НЧ Au.

Залежність фотолюмінесценції фотосенсибілізатора ZnTPP від концентрації наночастинок Au, зображена на рис. 4.18 (трикутники), пов'язана з тим, що при зміні концентрації наночастинок Au, змінюється і середня відстань між ними та молекулами ZnTPP, оскільки як наночастинок, так і молекули зв'язані з макромолекулами D-g-РААan. Зміна відстані призводить до зміни інтенсивності взаємодії між поверхневими плазмонами в наночастинках Au з електронними збудженням молекул ZnTPP [17, 22, 7, 66, 67]. Також інтенсивності взаємодії залежить від спектрального перекриття ППР та електронного енергетичного спектру флюорофора (молекули). Сильніша взаємодія має місце на менших відстанях та/або при більшому спектральному перекритті. Як зазначалося раніше, у наносистемі ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au молекули ZnTPP та наночастинок Au розташовані близько одна до одної. Також, спектральне перекриття між ППР Au НЧ (рис. 4.14 (б)) та спектрами поглинання (рис. 4.14) та ФЛ (рис. 4.15) ZnTPP є значним. Тому цілком обґрунтовано очікувати досить сильної взаємодії між НЧ Au та молекулами ZnTPP у досліджуваній системі.

Таким чином, інтенсивність молекулярної ФЛ визначається дією двох конкуруючих фізичних механізмів. Перший – це плазмонне підсилення ФЛ, яке сильніше, коли відстань між наночастиною металу та молекулою менша

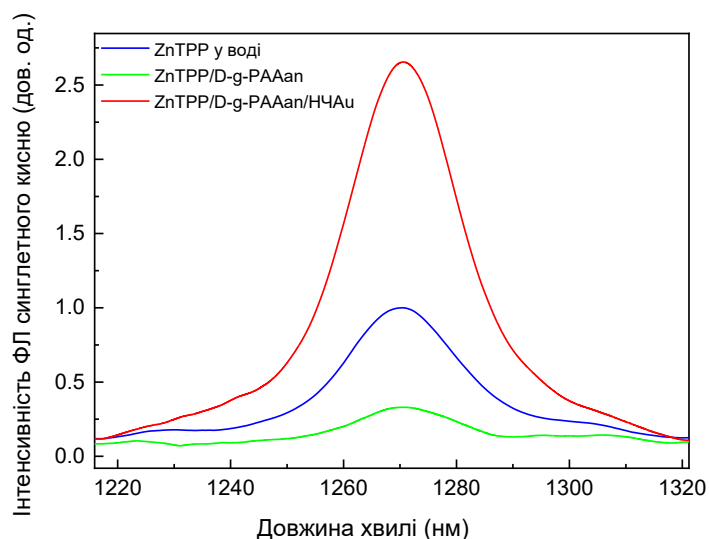
[17, 22, 7, 66, 68]. Напруженість плазмонного поля залежить від відстані від наночастинки металу, як  $E_{sp} \propto R^{-3}$  [68]. Другий механізм – це резонансне перенесення енергії (RET, Resonance Energy Transfer), за допомогою якого енергія збудженого донора (флюорофора) може бути безвипромінювально передана акцептору (наночастинці металу) [17, 22, 7, 68, 69]. RET викликає гасіння ФЛ. Швидкість гасіння ФЛ внаслідок RET залежить від відстані донор-акцептор, як  $g_{RET} \propto R^{-n}$  [69]. Існує кілька теоретичних моделей, в яких проаналізовано різні фізичні механізми, що зумовлюють явище RET. Це фьорстерівське резонансне перенесення енергії (FRET), перенесення поверхневої енергії наночастинкам (NSET), перенесення енергії від диполя до металеві частинки (DMPET) та зміна часу життя, індукована наночастинками (NPILM) [69]. Основна відмінність між цими теоріями RET полягає в значенні  $n$ , яке знаходиться в діапазоні від 3 до 6, залежно від теорії. Найпоширенішою теорією RET є FRET, за якої енергія передається безвипромінювально через диполь-дипольний взаємодію. Ефективність FRET залежить від відстані донор-акцептор як  $R^{-6}$  [69]. На практиці, це обмежує FRET відстанями нижче 10 нм. У результаті конкуренції гасінням ФЛ внаслідок FRET та плазмонного підсилення ФЛ існує оптимальна відстань між металеві наночастинкою та флюорофором (близько 10 нм), при якій інтенсивність ФЛ є найвищою [7]. На відстанях менше 10 нм невелике зменшення відстані призводить до сильного гасіння ФЛ. На відстанях більше 10 нм зменшення відстані призводить до підсилення ФЛ.

Таким чином, при нижчих концентраціях наночастинок Au в діапазоні 0–0,008 г/л відстань між молекулами ZnTPP та наночастинками Au є занадто великою для FRET. Тому збільшення концентрації наночастинок, що призводить до зменшення відстані між наночастинками Au та молекулами ZnTPP, викликає посилення плазмонного підсилення фотолюмінесценції. При концентраціях золота, вищих за приблизно 0,008 г/л, відстань між наночастинками Au та молекулами ZnTPP стає достатньо малою для суттєвого впливу FRET на гасіння ФЛ зі збільшенням концентрації золота. Таким чином,

можна зробити висновок, що існує оптимальна концентрація наночастинок золота, яка забезпечує найвище плазмонне підсилення електронних процесів, що відбуваються у фотосенсибілізаторі ZnTPP.

#### **4.2.5 Фотогенерація синглетного кисню системами ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au**

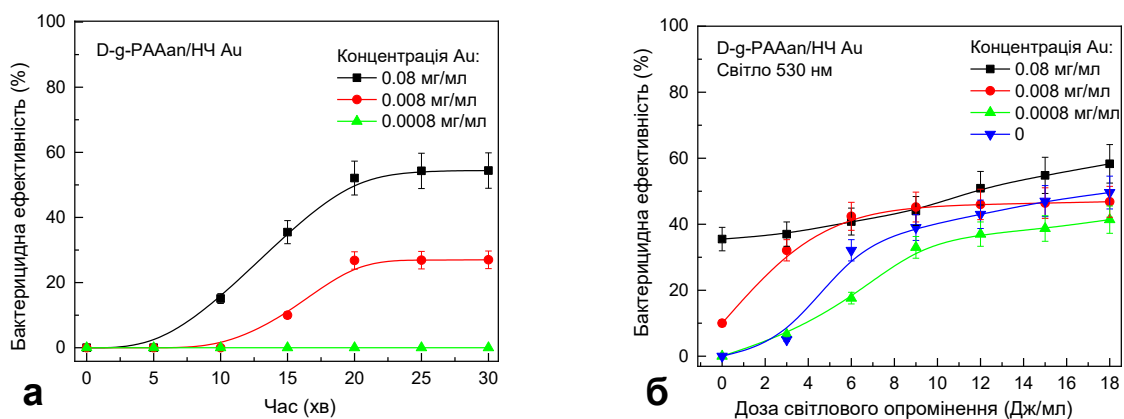
Для аналізу ефективності наносистем ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au для використання у фотодинамічній терапії були виміряні спектри випромінювання синглетного кисню, як показано на рис. 4.19. Видно, що водні розчини Au НЧ (чорна лінія) та D-g-РААan/НЧ Au (пурпурова лінія) без ZnTPP не демонструють випромінювання синглетного кисню. Водночас спостерігається чіткий пік випромінювання з максимумом приблизно на 1270 нм, що є характерною довжиною хвилі синглетного  $O_2$  [70] для ZnTPP, ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧAu. Випромінювання синглетного кисню було виявлено на довжинах хвиль збудження 421 нм (смуга Core) та 553 нм (Q смуга). При збудженні 421 нм інтенсивність піку випромінювання приблизно однакова для ZnTPP у воді та для водних розчинів ZnTPP/D-g-РААan та ZnTPP/D-g-РААan/НЧAu. При збудженні 553 нм інтенсивність випромінювання для ZnTPP у воді та для водного розчину ZnTPP/D-g-РААan близька до відповідної інтенсивності при збудженні 421 нм. Однак, збудження ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au при 553 нм призводить до значного (у 2,6 рази) збільшення інтенсивності піку випромінювання синглетного кисню. Враховуючи, що 553 нм близька до довжини хвилі ППР в НЧ Au (520 нм), природно припустити, що збільшення ефективності фотогенерації синглетного  $O_2$  має плазмонне походження. Таким чином, для гібридної наносистеми ZnTPP/D-g-РААan/НЧ Au спостерігалось плазмонне підсилення фотогенерації синглетного кисню, що вказує на її перспективність для використання у фотодинамічній терапії.



**Рис. 4.19.** Спектри випромінювання синглетного кисню для ZnTPP у воді (синя лінія) та водних розчинах ZnTPP/D-g-PAAan (зелена лінія) та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au (червона лінія). Збудження 553 нм; концентрації: ZnTPP – 0,01 г/л; D-g-PAAan – 0,080 г/л; Au – 0,079 г/л.

#### 4.2.6 Бактерицидна фотодинамічна активність систем ZnTPP/D-g-PAAan та ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au

Відомо, що клітинні стінки грампозитивних бактерій складаються з товстого шару зшитих пептидогліканів. Наявність значної кількості тейхоєвої кислоти дозволяє утворювати негативний заряд на поверхні бактеріальних клітин. Заряд їхніх фосфатних груп лише частково компенсується зшитими пептидами та D-аланіном [74]. Дзета-потенціал грампозитивних мікроорганізмів є негативним [75]. Тим не менш, вони прилипають до негативно заряджених поверхонь та активно розмножуються. З огляду на це, можна використовувати негативно заряджений полімер як носій для антибактеріальних засобів.



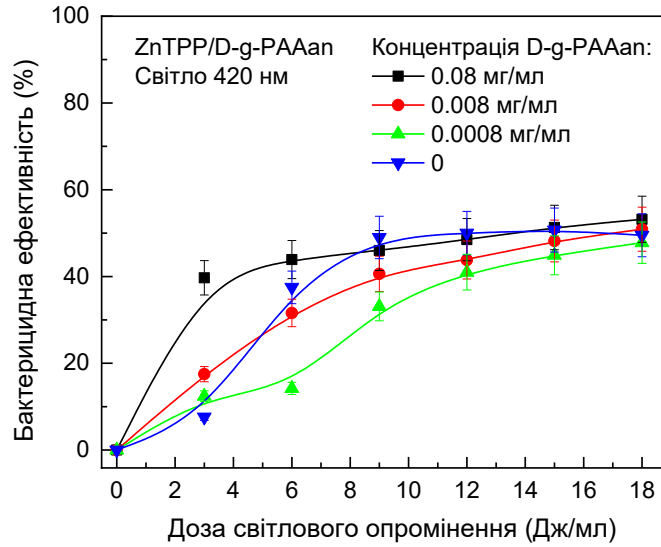
**Рис. 4.20.** Ступінь інактивації *S. aureus* у суспензії як функція часу після додавання D-g-РААan/НЧ Au (**а**) та як функція дози світлового опромінення 530 нм (**б**). Сині трикутники (**б**) показують референсну залежність, отриману без додавання D-g-РААan/НЧ Au. Концентрація НЧ Au: 0,08 г/л, 0,008 г/л та 0,0008 г/л. Потужність світла 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Експериментальні точки для зручності інтерпольовані сплайнами.

Кількість КУО *S. aureus* у суспензії після додавання D-g-РААan та ZnTPP не змінюється. Однак, кількість КУО *S. aureus* у суспензії зменшується на 50% та 30% протягом 20 хв після додавання D-g-РААan/НЧ Au з концентрацією золота 0,08 та 0,008 г/л відповідно, рис. 4.20 (а). В той же час, цей штам *S. aureus* нечутливий до D-g-РААan/НЧ Au з концентрацією золота 0,0008 г/л. Наночастинки золота порушують нормальний перебіг біохімічних процесів у бактеріальних клітинах, таких як синтез ДНК, виробництво АТФ тощо, що зумовлює їхній бактерицидний ефект [71].

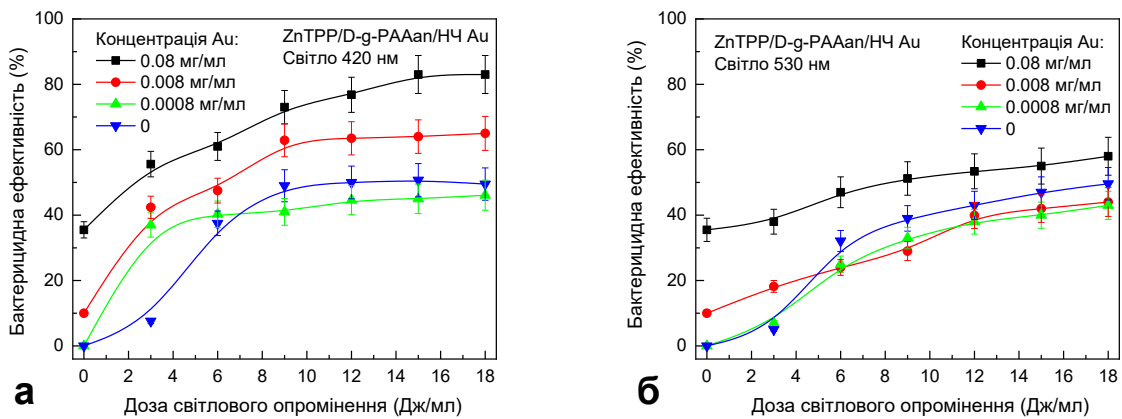
Опромінення світлом з довжиною хвилі 530 нм майже не впливає на антибактеріальну активність D-g-РААan/НЧ Au з концентрацією золота 0,08 г/л, рис. 4.20 (б). Однак, зменшення концентрації в 10 разів у поєднанні зі світлом 530 нм забезпечує збільшення бактерицидного ефекту з 10% до 40% при дозі опромінення 6 Дж/мл. Для D-g-РААan/НЧ Au з низькою концентрацією золота 0,0008 г/л бактерицидна ефективність не збільшується

при опроміненні світлом 530 нм, рис. 4.20 (б). Імовірно, важливою є концентрація негативно зарядженого полімеру. Вона забезпечує стабільність НЧ Au у розчині, а також їхній контакт з бактеріальними клітинами. Велика кількість макромолекул полімеру D-g-PAAan забезпечує сильніше відштовхування між наносистемою та клітинними стінками бактерій. Імовірно, це і є причиною поступового збільшення антибактеріальної активності з часом або у відповідь на світлове опромінення без різкого збільшення, характерного для нейтральних полімерів, рис. 4.20 (а) та (б). Додавання ZnTPP/D-g-PAAan з концентраціями D-g-PAAan 0,008 та 0,0008 г/л до суспензій *S. aureus* суттєво не змінює бактерицидну активність під дією світла 420 нм, рис. 4.21. Кількість КУО зменшується на 40% після опромінення світлом (420 нм, 3 Дж/мл) бактеріальної суспензії з ZnTPP/D-g-PAAan з концентрацією 0,08 г/л. Отже, ефективність ZnTPP залежить від концентрації D-g-PAAan.

Аналіз бактерицидної дії ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au у поєднанні з опроміненням світлом 420 нм показав лише поступове збільшення бактерицидного ефекту зі збільшенням дози опромінення, за винятком концентрації золота 0,0008 г/л у ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au, рис. 4.22 (а). Кількість КУО лінійно зменшується від 50% до 20% зі збільшенням дози опромінення від 3 до 18 Дж/мл при концентрації золота 0,08 г/мл з використанням ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au. Максимальна бактерицидна активність при концентрації золота 0,008 г/мл становить 60% при дозі опромінення 9 Дж/мл, а для концентрації золота 0,0008 г/мл максимум становить 40% при дозі 3 Дж/мл. Опромінення світлом 530 нм не призводить до жодних суттєвих змін бактерицидної активності наноконструкцій, рис. 4.22 (б).



**Рис. 4.21.** Ступінь інактивації *S. aureus* у суспензіях після додавання ZnTPP/D-g-PAAan та опромінення світлом 420 нм як функція дози світлового опромінення. Сині трикутники – референсна залежність без додавання ZnTPP/D-g-PAAan. Концентрації: D-g-PAAan: 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л; ZnTPP: 0,001 г/л. Потужність світла 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Експериментальні точки інтерпольовані сплайнами для зручності.



**Рис. 4.22.** Ступінь інактивації *S. aureus* у суспензії після додавання ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au у поєднанні з опроміненням світлом 420 нм (а) та світлом 530 нм (б) як функція дози опромінення. Сині трикутники – референсні залежності, отримані без додавання ZnTPP/D-g-PAAan/НЧ Au. Концентрації:

Au НЧ: 0,08 г/л, 0,008 г/л та 0,0008 г/л; ZnTPP: 0,001 г/л. Потужність світла 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл. Експериментальні точки інтерпольовані сплайнами для зручності.

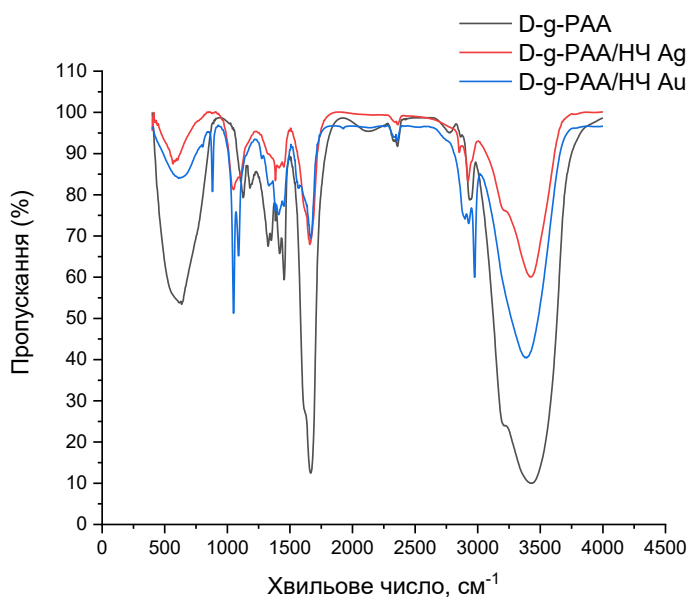
Результати вказують на значний вплив типу полімеру на бактерицидну активність нанокмпозитів. Наноконтейнер для бактерицидних речовин з негативним дзета-потенціалом запобігає швидкій взаємодії системи з бактеріальними клітинами. Тому для досягнення максимального ефекту інактивації КУО потрібний більший час або стимуляція зовнішнім фактором, таким як світло. Доказом поступової взаємодії полімеру з бактеріальними клітинами або повільного вивільнення активних компонентів системи в навколишнє середовище є незначне стабільне збільшення бактерицидної активності з часом або зі збільшенням дози опромінення. Виявлені ефекти при використанні ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au потенційно можуть забезпечити тривалий антибактеріальний ефект після опромінення системи світлом. Отримана бактерицидна активність нанокмпозитів була досягнута за короткий проміжок часу, що не перевищує 20 хв. Отже, нанокмпозит ZnTPP/D-g-PAAn/НЧ Au потенційно може бути використаний для профілактики та лікування бактеріального забруднення відкритих ран.

#### **4.3 Плазмонне підсилення антиракової фотодинамічної ефективності гібридних наносистем “полімер декстран-поліакриламід – наночастинки Au (Ag) – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”**

##### **4.3.1 Спектри інфрачервоного поглинання систем D-g-РАА, D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Ag**

Спектри ІЧ-поглинання (FTIR) показано на рис. 4.23. На ІЧ-спектрі D-g-РАА можна бачити характерні піки РАА в діапазоні від 3150 – 3250  $\text{cm}^{-1}$ , що відповідають коливанню-розтягу зв'язку –ОН/Н<sub>2</sub> в РАА та 2900 – 2950  $\text{cm}^{-1}$ ,

які відповідають симетричному та асиметричному коливанню-розтягу зв'язку  $-\text{CH}_2$  в РАА. Проте, аналізувати цю область спектрів недоцільно через наявність води у зразку з сильними характерними смугами коливання-розтягу зв'язку  $-\text{OH}$ , які перекриваються зі смугами полімеру. Дві інтенсивні смуги на  $1650\text{--}1660\text{ см}^{-1}$  та  $1615\text{ см}^{-1}$ , що відповідають аміді 1 (коливання-розтяг зв'язку  $\text{C}=\text{O}$ ) та аміді 2 (коливання-згин зв'язку  $\text{N}-\text{H}$ ) відповідно, є характерними смугами РАА [76]. Масовий внесок декстранового компонента (близько 4%) настільки малий, що ним можна нехтувати.

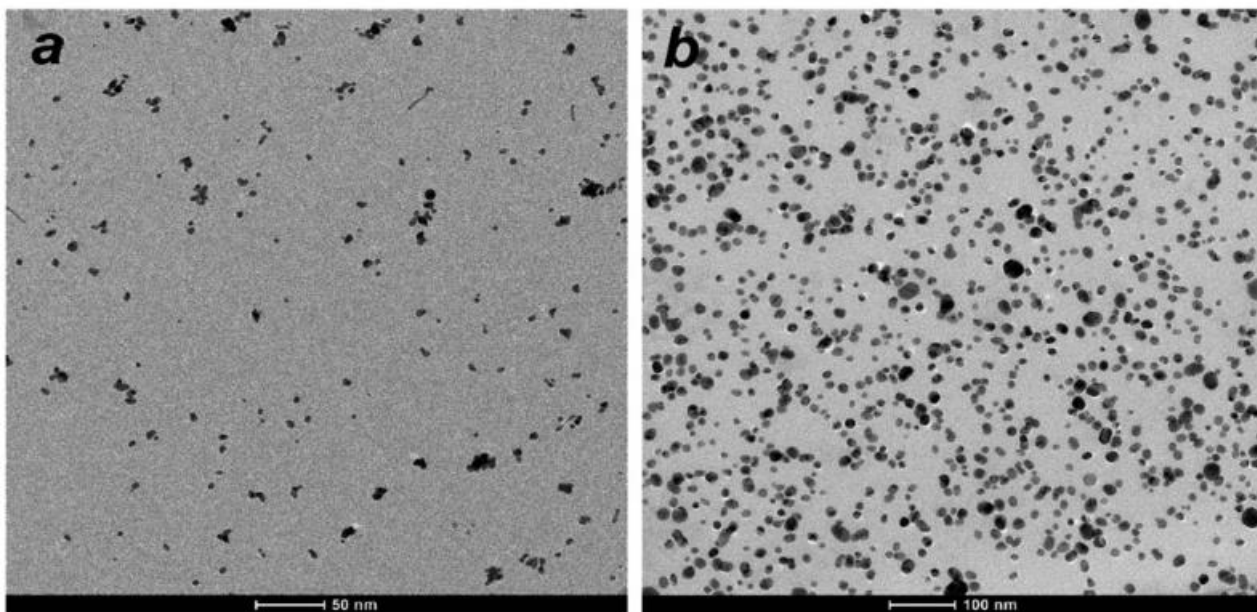


**Рис. 4.23.** FTIR спектри ІЧ-поглинання наносистем D-g-РАА, D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Ag.

#### 4.3.2 Дослідження систем D-g-РАА, ZnTRP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTRP/D-g-РАА/НЧ Ag за допомогою динамічного розсіяння світла та просвічуючої електронної мікроскопії

Типові ПЕМ-зображення наногібридів D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Ag представлені на рис. 4.24. Наночастинки Au мають сферичну форму із середнім розміром (діаметром) 5,0 нм, рис. 4.24 (а) та 4.24 (б). Аналогічно, наночастинки Ag також є сферичними та мають середній розмір 7,2 нм.

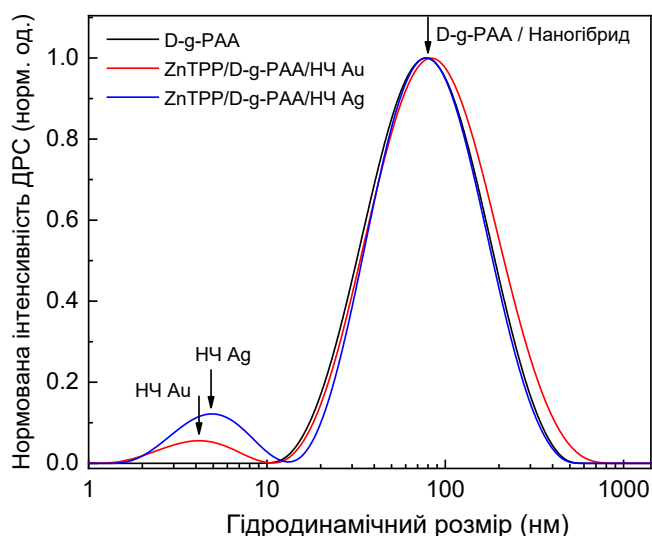
Полімерний компонент, D-g-РАА, не помітний на зображеннях ПЕМ через значно нижчий контраст порівняно з наночастинками металу. Однак, можна спостерігати, що наночастинки Au та Ag переважно згруповані разом, що вказує на їх зв'язування з макромолекулами D-g-РАА, хоча деякі наночастинки металу залишаються незв'язаними. Самі ж молекули ZnTPP не видно на зображеннях TEM через їх малий розмір та низьку контрастність.



**Рис. 4.24.** ПЕМ-зображення наногібридів D-g-РАА/НЧ Au (a) і D-g-РАА/НЧ Ag (b).

Оскільки метод ПЕМ не дозволяє визначати розміри таких компонентів наногібриду як полімер та фотосенсибілізатор, також був використаний метод динамічного розсіяння світла. Отриманий розподіл частинок за розмірами для водних розчинів полімеру D-g-РАА, а також наногібридів ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag проілюстровано на рис. 4.25. Враховуючи, що наногібриди у воді можуть бути потенційно нестабільними, вимірювання ДРС проводилися через 1 год і 24 години після приготування наногібридів (додавання ZnTPP до розчинів D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Ag). Було виявлено, що наногібриди ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag у воді є як агрегативно, так і седиментаційно стабільними. Розподіл частинок

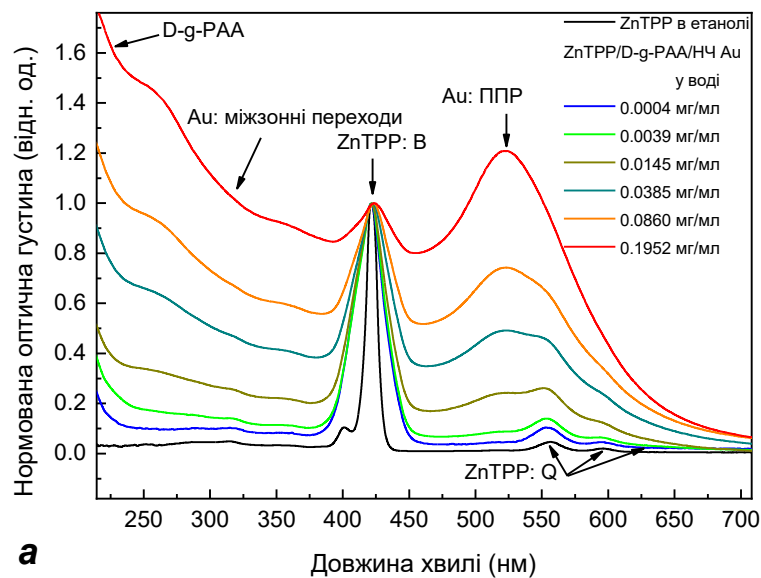
за розмірами для водного розчину полімеру D-g-PAA демонструє один пік, що відповідає гідродинамічному діаметру  $D_H = 78$  нм (рис. 4.25, чорна лінія). Наногібрид ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au характеризується розподілом з двома піками на 4,2 нм та 84 нм (рис. 4.25, червона лінія). Перший пік на 4 нм відноситься до наночастинок Au, а другий – до гібридних макромолекул ZnTPP/D-g-PAA/НЧAu. Розподіл частинок за розмірами для наногібрида ZnTPP/D-g-PAA/НЧAg також містить два піки на 4,9 нм та 79 нм (рис. 4.25, синя лінія). Перший пік на 4,9 нм відповідає наночастинкам Ag, а другий – гібридним макромолекулам ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag. Дані вказують на те, що включення молекул ZnTPP та наночастинок Au та Ag має мінімальний вплив на розмір макромолекули полімеру, що свідчить про відсутність агрегатів ZnTPP та наночастинок металу в об'ємі гібридних макромолекул. Також слід зазначити хорошу узгодженість середніх розмірів наночастинок Au та Ag, визначених за допомогою ПЕМ (5 нм та 7 нм відповідно) та ДРС (4 нм та 5 нм відповідно). Незважаючи на низьку інтенсивність піків в розподілі за розмірами для наночастинок Au та Ag, концентрація наночастинок металу в досліджуваних розчинах є досить значною. Це пояснюється тим, що інтенсивність релєйського розсіяння світла частинками залежить від їх розміру як  $D_H^6$ .



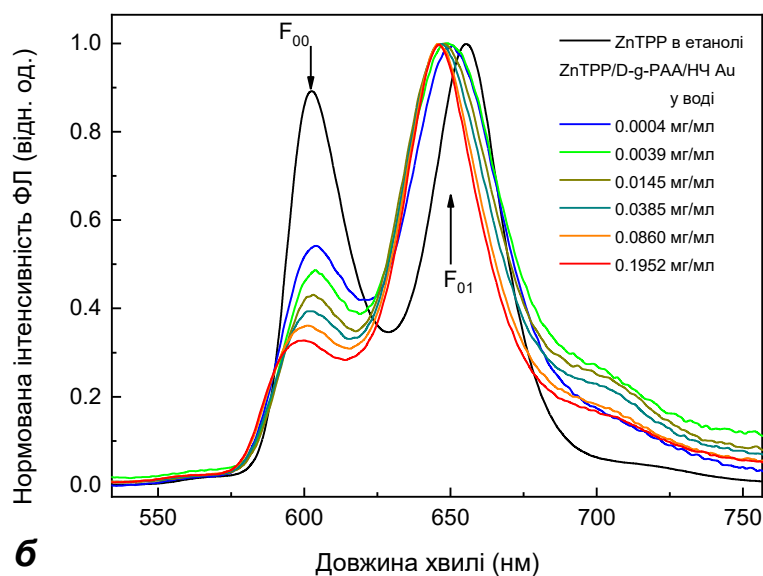
**Рис. 4.25.** Розподіли частинок за розмірами для водних розчинів D-g-PAA, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag, отримані методом динамічного розсіяння світла.

### **4.3.3 Концентраційні залежності поглинання світла та фотолюмінесценції розчинів систем ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag**

Наногібриди ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag були досліджені методами поглинання світла та фотолюмінесценції (рис. 4.26 та рис. 4.27 відповідно). Для порівняння також було виміряно спектр поглинання фотосенсибілізатора ZnTPP в етанолі (рис. 4.26 та рис. 4.27, чорна лінія). Спектр поглинання ZnTPP в етанолі демонструє типову структуру порфіринів в органічних розчинниках [62–65]. Зокрема, він містить інтенсивний В пік (Core) з характерною дублетною структурою в діапазоні 385–440 нм з максимумом на 420 нм та групу низькоінтенсивних Q піків в діапазоні 530–620 нм. Піки Q та В походять від поглинальних переходів з основного стану електрона до 1-го та 2-го збуджених електронних станів молекули порфірину відповідно. Аналогічно, спектр ФЛ ZnTPP в етанолі демонструє дублетну структуру, подібну до інших порфіринів, з короткохвильовим (602 нм) піком  $F_{00}$  та довгохвильовим (655 нм) піком  $F_{01}$  [70, 77]. Ці піки походять від випромінювальних переходів з основного коливального рівня 1-го збудженого електронного стану до основного стану та 1-го збудженого коливального рівня основного електронного стану молекули порфірину [78, 49]. Світло з довжиною хвилі 420 нм було обрано для збудження ФЛ, оскільки вона спектрально збігається з довжиною хвилі найінтенсивнішого В-піку спектру поглинання молекули ZnTPP.



**а**



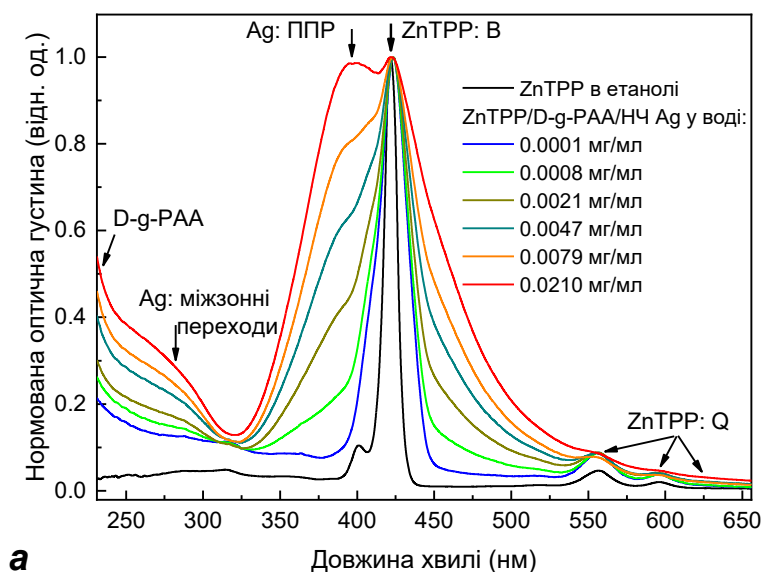
**б**

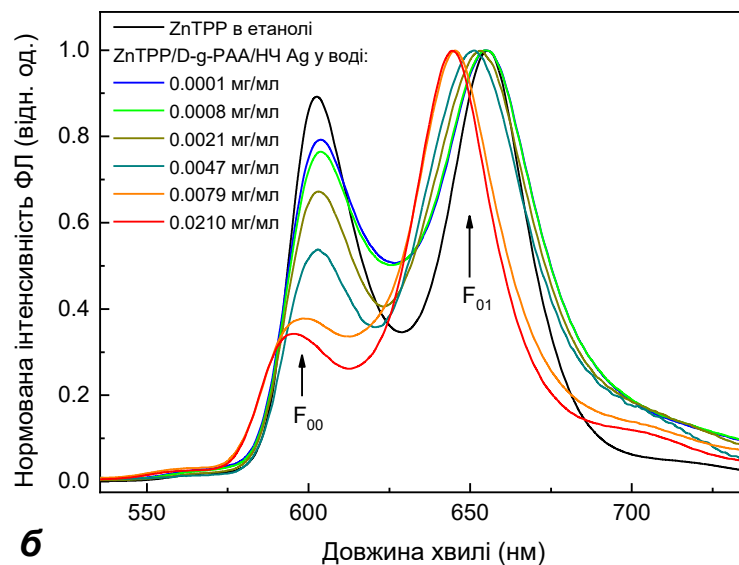
**Рис. 4.26.** Нормовані спектри поглинання **(а)** та фотолюмінесценції **(б)** наногібрида ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au у воді за різних концентрацій D-g-PAA та Au. Спектри ZnTPP в етанолі наведено як референсні. Довжина хвилі збудження ФЛ – 420 нм. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA та Au – у діапазоні 0,0004–0,1952 мг/мл.

Було досліджено залежність спектрів поглинання та фотолюмінесценції водних розчинів потрійних наногібридів ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-

D-g-РАА/НЧ Ag від концентрації полімеру та золота/срібла (рис. 4.26 та рис. 4.27 відповідно). Для зручності аналізу трансформації спектрів поглинання та ФЛ зі збільшенням концентрацій D-g-РАА та металу, спектри були нормовані за інтенсивністю.

Спектри поглинання (рис. 4.26 (а) та рис. 4.27 (а)) містять піки різної природи: (1) піки В та Q молекули ZnTPP (позначені як ZnTPP: В та ZnTPP: Q відповідно); (2) піки поглинання світла наночастинками Au (Au: ППР – пік поверхневого плазмонного резонансу з максимумом на 525 нм та пік міжзонних переходів у золоті) або наночастинками Ag (Ag: ППР – пік локалізованого поверхневого плазмонного резонансу з максимумом на 400 нм та пік міжзонних переходів у сріблі); (3) пік поглинання полімеру (D-g-РАА) на довжинах хвиль коротших за 250 нм. Спектри поглинання показують, що додавання етанольного розчину ZnTPP до водного розчину полімер-металевого наногібрида призводить до розмиття дублетної структури В піку, ймовірно, через гідрофобну взаємодію молекул ZnTPP з водою. Також очевидно, що збільшення концентрації полімеру та металів призводить до очікуваного збільшення інтенсивності їхніх піків поглинання.





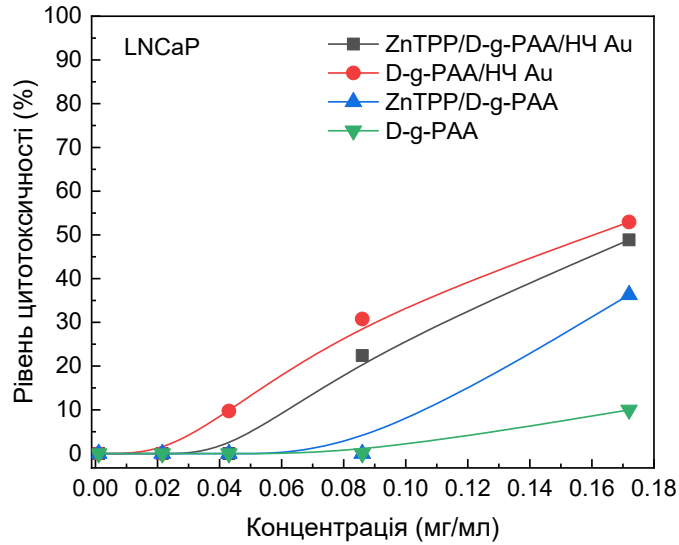
**Рис. 4.27.** Нормовані спектри поглинання (а) та фотолюмінесценції (б) наногібрида ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag у воді за різних концентрацій D-g-PAA та Ag. Спектри ZnTPP в етанолі наведено для порівняння. Довжина хвилі збудження ФЛ – 420 нм. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA та Ag – у діапазоні 0,0001–0,0210 мг/мл.

У спектрах поглинання, В-пік молекули ZnTPP (420 нм) та ППР-пік наночастинок Ag (400 нм) є спектрально резонансними, тоді як ППР-пік наночастинок Au (525 нм) далекий від резонансу з В-піком ZnTPP. Це свідчить про те, що плазмонне підсилення електронних процесів у молекулах ZnTPP (зокрема фотогенерації активних форм кисню) у наногібриді, що містить наночастинок Ag, має бути набагато сильнішим, ніж у наногібриді, що містить наночастинок Au. Крім того, добре відомо, що наночастинок срібла генерують сильніше плазмонне поле поблизу своєї поверхні, ніж наночастинок золота. Отже, фотодинамічна активність наногібрида ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag повинна бути вищою, ніж у ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au.

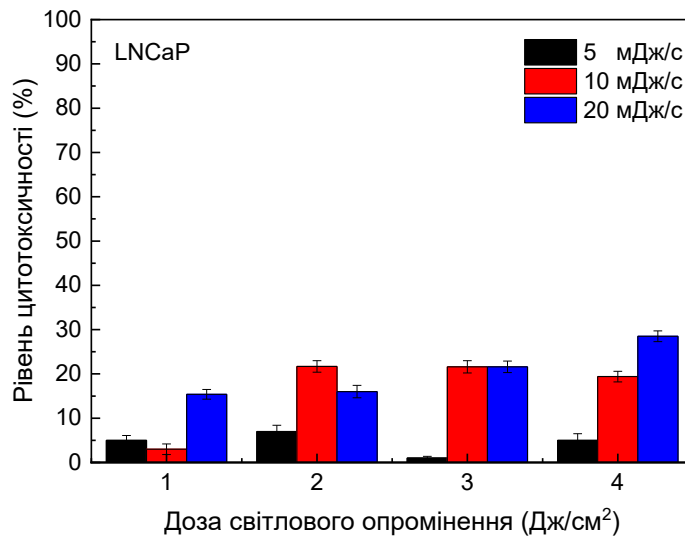
У видимому діапазоні фотолюмінесцентними центрами наногібридів ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag є молекули ZnTPP, тому спектри ФЛ наногібридів, рис. 4.26 (б) та рис. 4.27 (б) відображають спектр

ФЛ молекули ZnTPP. Однак, він зазнає трансформації порівняно зі спектром ZnTPP в етанолі через взаємодію молекул фотосенсибілізатора як з водою, так і з гібридними макромолекулами полімер/металеві НЧ. Рис. 4.26 (а) та рис. 4.27 (а) показують, що збільшення концентрації полімеру та металу Au(Ag) призводить до значної трансформації спектра ФЛ. По-перше, спостерігається помітне зменшення інтенсивності короткохвильового піку  $F_{00}$  у 2,7 рази порівняно з інтенсивністю довгохвильового піку  $F_{01}$  (при концентрації 0,1952 мг/мл D-g-РАА/НЧ Au та 0,0210 мг/мл D-g-РАА/НЧ Ag), що відображає зміни ймовірностей відповідних радіаційних переходів у молекулі ZnTPP. По-друге, спостерігається червоний зсув на 10 нм більш інтенсивного піку  $F_{01}$  при тих самих концентраціях полімеру та металу, що вказує на зміну енергетичного спектру молекули фотосенсибілізатора. Більше того, зі збільшенням концентрації наногібрида D-g-РАА/НЧ Au(Ag) обидва ефекти посилюються. Ці ефекти вказують на зв'язування молекул ZnTPP з гібридними макромолекулами обох типів: D-g-РАА/НЧ Au та D-g-РАА/НЧ Ag.

Ще одним доказом зв'язування молекул ZnTPP з макромолекулами D-g-РАА/НЧ Au(Ag) є результати вимірювання анізотропії ФЛ. Збільшення анізотропії ФЛ має свідчити про зменшення кількості ступенів вільності молекули в результаті її зв'язування, в нашому випадку, з наногібридами. Було виявлено, що значення анізотропія ФЛ молекул ZnTPP у водних розчинах наногібридів ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag становлять 0,24 та 0,18 відповідно, що вказує на часткове зв'язування молекул фотосенсибілізатора з гібридними макромолекулами. Одночасно молекули ZnTPP в етанолі фактично є вільними, про що свідчить значення анізотропії ФЛ  $r = 0,07$ . Таким чином, доведений факт зв'язування молекул ZnTPP з наногібридами D-g-РАА/НЧ Au(Ag) вказує на можливість використання макромолекул полімерів D-g-РАА як наноносіїв, а наночастинок Au та Ag як плазмонних підсилювачів фотогенерації активних форм кисню.



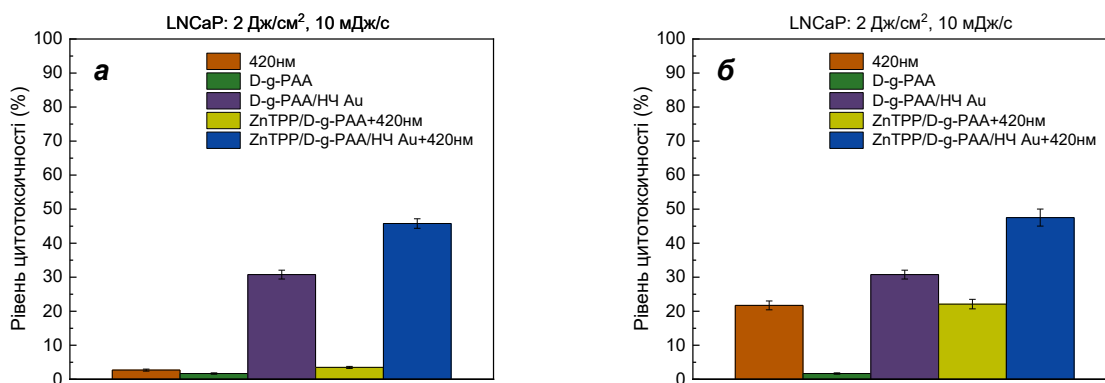
**Рис. 4.28.** Цитотоксичність наногібриду ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та його компонентів для клітин раку простати LNCaP. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA варіювалися в діапазоні 0,001–0,172 мг/мл.



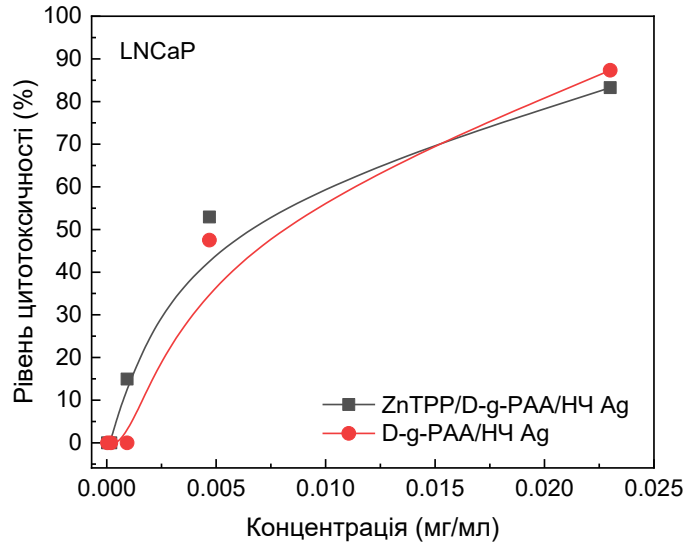
**Рис. 4.29.** Цитотоксичність світла 420 нм для клітин раку простати LNCaP. Потужність світла – 5, 10 та 20 мДж/с; доза опромінення – 1, 2, 3 та 5 Дж/см<sup>2</sup>.

#### 4.3.4 Дослідження цитотоксичності ZnTPP, ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag для клітин раку простати LNCaP

Результати досліджень цитотоксичності наногібридів на основі кополімеру декстран-поліакриламід (D-PAA) представлені на рис. 4.28. Дослідження цитотоксичності чистого кополімеру D-PAA виявили незначне зменшення кількості клітин LNCaP, до 10% від початкової кількості. Додавання двокомпонентного наногібрида D-g-PAA/НЧAu (без фотосенсибілізатора ZnTPP) з концентраціями кополімеру та золота 0,172 мг/мл та 0,086 мг/мл до клітинної суспензії зменшує кількість ракових клітин на 53% та 31% відповідно. Трикомпонентний наногібрид ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au з такими ж концентраціями золота та полімеру та концентрацією ZnTPP 0,001 мг/мл показує подібні ефекти: 49% та 23%. Двокомпонентний наногібрид ZnTPP/D-g-PAA (без НЧ Au) також був цитотоксичним (36%) при концентраціях D-PAA та ZnTPP 0,172 мг/мл та 0,001 мг/мл відповідно. ZnTPP (0,001 мг/мл) не впливає на кількість клітин при додаванні до інкубаційного середовища.



**Рис. 4.30.** Цитотоксичність наногібриду ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au та його окремих компонентів для клітин раку простати LNCaP під впливом світлового опромінення 420 нм. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA – 0,086 мг/мл, потужність світла – 10 мДж/с, доза опромінення – 1 Дж/см<sup>2</sup> (а) та 2 Дж/см<sup>2</sup> (б).



**Рис. 4.31.** Цитотоксичність D-g-PAA/НЧ Ag на клітини раку простати LNCaP. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA та D-g-PAA/НЧ Ag варіювали в діапазоні 0,0023–0,0000368 мг/мл.

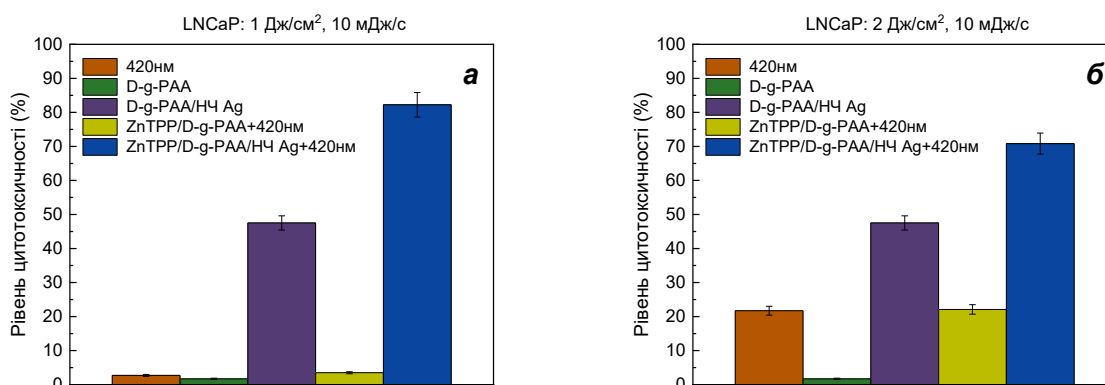
Важливою умовою використання світла у фотодинамічній терапії є його мінімальний вплив на здорові тканини. Ультрафіолетове випромінювання має занадто високу енергію фотонів, що може активувати мутагенез та ініціювати ракову трансформацію клітин [79]. Світло синього діапазону видимого спектру менш шкідливе, але все ще здатне пошкоджувати як фоточутливі клітини сітківки, так і нормальні ембріональні клітини, викликаючи оксидативний стрес [80, 81]. Тому для вивчення фототоксичності синього світла з довжиною хвилі 420 нм на клітини раку простати LNCaP було обрано слабку потужність світла 5, 10 та 20 мДж/с із дозами 1, 2, 3 та 5 Дж/см<sup>2</sup>. Для опромінення використовувалася довжина хвилі 420 нм, оскільки вона збігається з піком поглинання Core молекули ZnTPP. Спочатку експерименти проводилися на клітинах LNCaP в інкубаційному розчині. Отримані результати показано на рис. 4.29. Виявлено слабку фототоксичність світла 420 нм, яка не перевищувала 30% при дозах опромінення 2, 3 та 5 Дж/см<sup>2</sup> з потужністю світла 10 та 20 мДж/с.

Для подальшого вивчення фототоксичної дії наногібрида ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au та його окремих компонентів на клітини раку простати LNCaP під впливом світлового випромінювання 420 нм було обрано два параметри опромінення, а саме дози 1 Дж/см<sup>2</sup> та 2 Дж/см<sup>2</sup> зі світловою потужністю 10 мДж/с, які мають мінімальний вплив на клітини та одночасно є достатніми для ініціації фотогенерації активних форм кисню молекулами ZnTPP. Концентрація НЧ Au становила 0,086 мг/мл, що забезпечувало стабільні цитотоксичні ефекти проти клітин раку простати лінії LNCaP. Не було виявлено статистично значущих відмінностей у протипухлинній активності наногібрида ZnTPP/D-g-РАА після опромінення світлом 420 нм із дозою 1 Дж/см<sup>2</sup>, рис. 4.30 (а). Потрійний наногібрид ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au у поєднанні зі світлом 420 нм забезпечує 45% зменшення популяції клітин LNCaP, що на 15% вище, ніж фотоіндукована цитотоксичність подвійного наногібрида D-g-РАА/НЧ Au. Збільшення дози опромінення до 2 Дж/см<sup>2</sup> майже не змінює ефективність потрійного наногібрида, яка становить 47%, рис. 4.30 (б). Отже, використання світла 420 нм низької потужності може збільшити протиракову активність наногібрида ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Au, а збільшення дози сприяє появі фототоксичних ефектів світла без суттєвої зміни протиракової активності наногібрида. Таким чином, завдяки високій цитотоксичній активності наногібрида D-g-РАА/НЧ Au у поєднанні з опроміненням світлом 420 нм, він має високий потенціал для фотодинамічного лікування раку простати.

Цитотоксичний ефект подвійного наногібрида D-g-РАА/НЧ Ag був протестований методом п'ятикратних розведень початкової концентрації 0,14 мг/мл у діапазоні 0,023–0,0000368 мг/мл, рис. 4.31. Додавання наногібрида D-g-РАА/НЧ Ag до суспензії клітин раку простати LNCaP у концентраціях 0,023 мг/мл та 0,0047 мг/мл зменшує кількість ракових клітин на 83 та 52% відповідно. Потрійний наногібрид ZnTPP/D-g-РАА/НЧ Ag має подібний ефект зниження на 87 та 47% при тих самих концентраціях срібла та полімеру, рис. 4.31.

Максимум піку поглинання фотосенсибілізатора ZnTPP та ППР у НЧ Ag знаходиться приблизно на 420 нм. Таким чином, коли потрійний наногібрид ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag опромінюється світлом такої довжини хвилі, відбувається генерація активних форм кисню молекулами ZnTPP та збудження поверхневих плазмонів у НЧ Ag. За таких умов, при дозі опромінення 1 Дж/см<sup>2</sup>, цитотоксичний ефект наногібрида ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag становить 83%, рис. 4.32 (а). Без опромінення наногібрид ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag зменшує кількість клітин на 47%. Концентрація використаних НЧ Ag становить 0,0047 мг/мл. Збільшення дози опромінення до 2 Дж/см<sup>2</sup> призводить до незначного зниження цитотоксичності до 70%, рис. 4.32 (б).

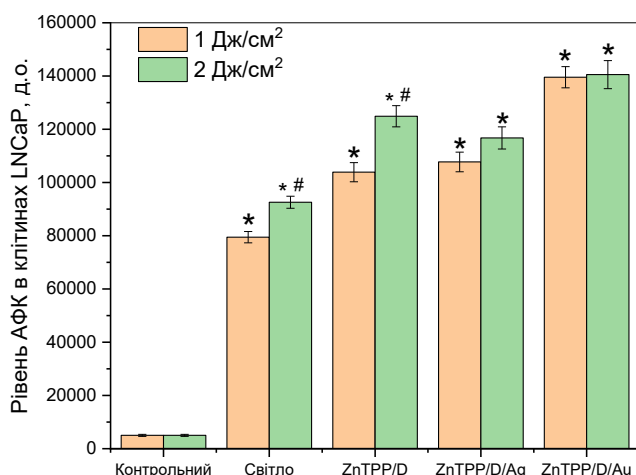
Отже видно, що опромінення світлом 420 нм має значний цитотоксичний ефект на клітини раку простати LNCaP завдяки утворенню активних форм кисню. Завдяки високій цитотоксичній активності наногібрида D-g-PAA/НЧ Ag, він має високий потенціал для лікування такого виду раку. Основні цитотоксичні ефекти наночастинок срібла забезпечуються вивільненням іонів Ag<sup>+</sup> та їх взаємодією з компонентами клітини.



**Рис. 4.32.** Цитотоксичність наногібриду ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag та його компонентів на клітини раку простати LNCaP під впливом світлового опромінення 420 нм. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA/НЧ Ag та D-g-PAA – 0,0047 мг/мл, потужність світла – 10 мДж/с, доза опромінення – 1 Дж/см<sup>2</sup> (а) та 2 Дж/см<sup>2</sup> (б).

### 4.3.5 Визначення рівня активних форм кисню в досліджуваних ракових клітинах

Рівень активних форм кисню у клітинах вимірювали під час інкубації клітин раку простати LNCaP з наногібридами під дією опромінення світлом 420 нм, рис. 4.33. Після опромінення клітин світлом 420 нм у дозах 1 Дж/см<sup>2</sup> та 2 Дж/см<sup>2</sup> відповідно було виявлено збільшення рівня активних форм кисню у 15 та 18 разів від початкового рівня. Генерація активних форм кисню посилювалася під час інкубації клітин з ZnTPP/D-g-РАА. Дозозалежні зміни рівня активних форм кисню були виявлені після опромінення необроблених клітин та після інкубації з ZnTPP/D-g-РАА. Наногібриди, що містять НЧ Ag, не змінювали генерацію активних форм кисню у клітинах LNCaP порівняно з ZnTPP/D-g-РАА під дією опромінення світлом з довжиною хвилі 420 нм. Наногібриди, що містять НЧ Au, збільшили генерацію активних форм кисню порівняно з ZnTPP/D-g-РАА в 1,3 рази та в 27 разів порівняно з базовим рівнем активних форм кисню. Синє світло добре поглинається порфіриновими та флавіновими структурами [82]. Важливо зазначити, що великі дози опромінення синім світлом також сприяють пошкодженню клітин. Результати генерації АФК під дією світлового опромінення 420 нм підтверджують це твердження.



**Рис. 4.33.** Рівень активних форм кисню у клітинах раку простати LNCaP після обробки ZnTPP/D-g-PAA (ZnTPP/D), ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Ag (ZnTPP/D/Ag) та ZnTPP/D-g-PAA/НЧ Au (ZnTPP/D/Au) при опроміненні світлом 420 нм. Концентрації: ZnTPP – 0,001 мг/мл, D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA – 0,0047 мг/мл, D-g-PAA/НЧ Au та D-g-PAA – 0,086 мг/мл, потужність світла – 10 мДж/с, доза опромінення – 1 Дж/см<sup>2</sup> та 2 Дж/см<sup>2</sup>; (\*p < 0,05 відносно контролю, #p < 0,05 відносної дози опромінення 1 Дж/см<sup>2</sup>).

#### **Висновки до розділу 4.**

У цьому розділі дисертаційної роботи представлено результати досліджень потрійних гібридних наносистем типу “полімер – плазмонні наночастинки – фотосенсибілізатор”. Полімерний компонент являв собою зіркоподібний полімер з декстрановим ядром та прищепленими до нього полімерними нитками поліакриламід, а також заряджений (аніонний) варіант системи декстран-поліакриламід. У якості плазмонного компонента було використано сферичні наночастинки золота або срібла. Як фотосенсибілізатор було використано речовину з сімейства порфіринів: цинк-тетрафенілпорфірин. Було отримано такі результати:

- Шляхом спектроскопічних досліджень було виявлено ефект зв'язування молекул фотосенсибілізатора з наногібридами “полімер – наночастинки металу” з утворенням потрійних гібридних наносистем “полімер – плазмонні наночастинки – фотосенсибілізатор”;
- Шляхом досліджень часових змін спектральних характеристик гібридних наносистем було виявлено їхню підвищену седиментаційну, агрегаційну стійкість та стійкість до окислювання порівняно з випадком вільних молекул фотосенсибілізатора у воді, що збільшує потенціал практичних застосування таких систем.
- Було виявлено значне підвищення рівня фотогенерації синглетного кисню в потрійних наносистемах “полімер –наночастинки металу – фотосенсибілізатор” порівняно з системами “полімер – фотосенсибілізатор” та вільним фотосенсибілізатором у водних розчинах;
- Біологічні дослідження *in vitro* продемонстрували високу фотодинамічну ефективність усіх видів досліджених потрійних гібридних наносистем “полімер – плазмонні наночастинки – фотосенсибілізатор”, яка є більшою порівняно з подвійною системою “полімер – фотосенсибілізатор” та вільним фотосенсибілізатором, що доводить перспективність таких наногібридів для медичних застосувань.

## РОЗДІЛ 5

### ТЕМПЕРАТУРНА МОДУЛЯЦІЯ ПЛАЗМОННОГО ПІДСИЛЕННЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ГІБРИДНОЇ НАНОСИСТЕМИ “ТЕРМОЧУТЛИВИЙ ПОЛІМЕР – НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОР”

#### 5.1 Температурна модуляція плазмонного підсилення фотодинамічної ефективності гібридної наносистеми “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”

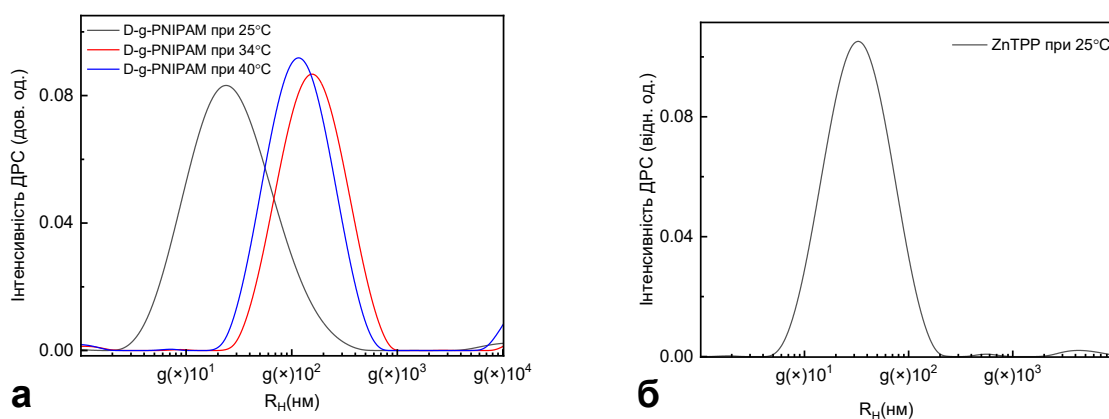
##### 5.1.1 Розмірна характеристика системи за допомогою просвічуючої електронної мікроскопії та динамічного розсіювання світла

Типові TEM зображення гібридних наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au, отримані при 20 °С, показані на рис. 3.1. Наночастинки Au мають сферичну форму та середній радіус 3 нм. Оскільки на TEM зображеннях контраст полімеру D-g-PNIPAM значно нижчий порівняно з наночастинками Au, макромолекули полімеру неможливо візуалізувати за допомогою TEM. Однак, середній радіус гібридних макромолекул D-g-PNIPAM/НЧ Au можна оцінити як радіус кластерів наночастинок Au на TEM-зображенні. Така оцінка дає радіус гібридної макромолекули D-g-PNIPAM/НЧ Au близько 25 нм, що узгоджується з даними отриманими за допомогою методу динамічного розсіювання світла.

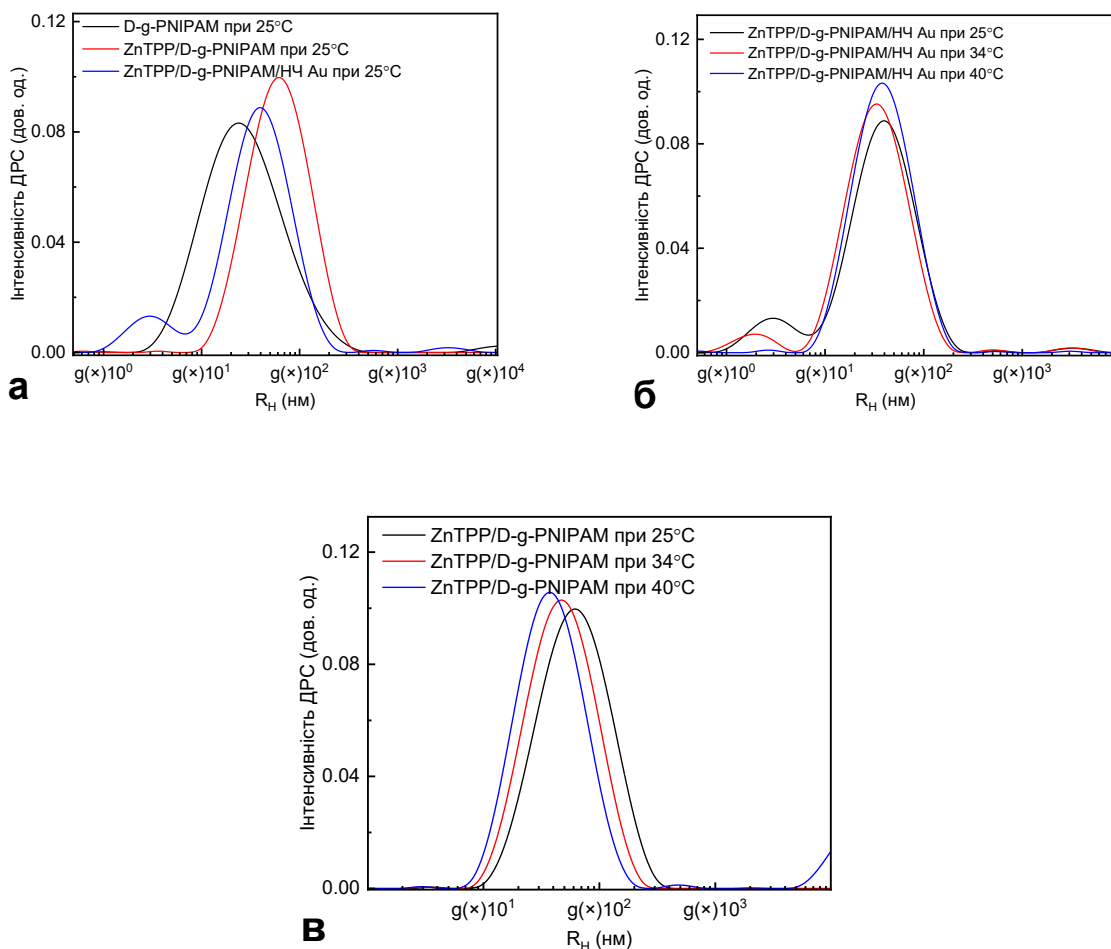
Вимірювання динамічного розсіювання світла були проведені для визначення розміру досліджуваних гібридних наноконкомпозитів у розчині. Рис. 5.1 (а) показує зміну розподілу частинок за розмірами D-g-PNIPAM під час переходу через область LCST переходу при нагріванні. Гідродинамічний радіус PNIPAM (що відповідає максимуму розподілу розмірів частинок) становить  $R_h^{\max} = 25$  нм при 25 °С. При нагріванні макромолекули D-g-PNIPAM утворюють агрегати з  $R_h^{\max} = 160$  нм при температурі LCST переходу,

34 °С. При подальшому нагріванні вище температури LCST переходу до 40 °С розмір агрегатів D-g-PNIPAM зменшується до 115 нм. На рис. 5.1 (б) показано розподіл частинок за розмірами для ZnTPP у водному розчині. У водному розчині молекули ZnTPP утворюють агрегати із середнім радіусом 32 нм, що пов'язано з тим що ZnTPP є гідрофобним.

Як бачимо на рис. 5.2 (а), при кімнатній температурі (25 °С) додавання ZnTPP до водних розчинів D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au суттєво впливає на середній розмір відповідних макромолекул. Зокрема, для двокомпонентної наносистеми ZnTPP/D-g-PNIPAM середній радіус  $R_h^{\max}$  змінюється до 61 нм, що більш ніж у двічі більше, ніж для чистого D-g-PNIPAM. Розподіл за розмірами для системи ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au має два піки. Це високоінтенсивний пік на 39 нм, що відповідає трикомпонентній наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, та низькоінтенсивний на 3 нм, що відповідає НЧ Au. Таким чином, гібридні макромолекули є розширеними порівняно з чистими D-g-PNIPAM.



**Рис. 5.1. (а)** – Розподіл частинок за розмірами для водного розчину D-g-PNIPAM за температур нижчих (25 °С), рівних (34 °С) та вищих (40 °С) за точку LCST. **(б)** – Розподіл частинок за розмірами для ZnTPP в етанолі, змішаному з водою, за температури 25 °С.

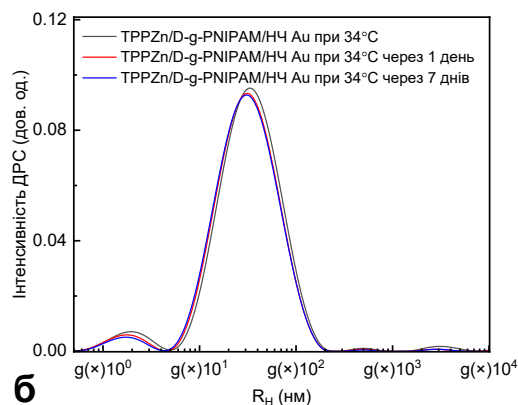
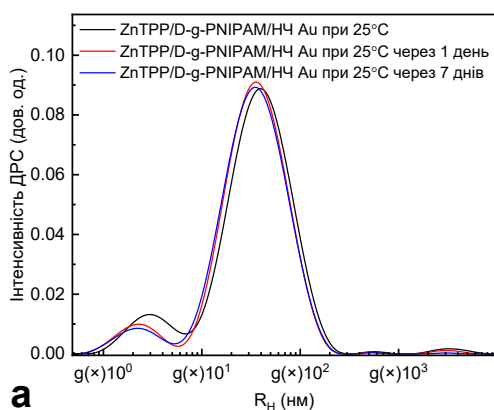


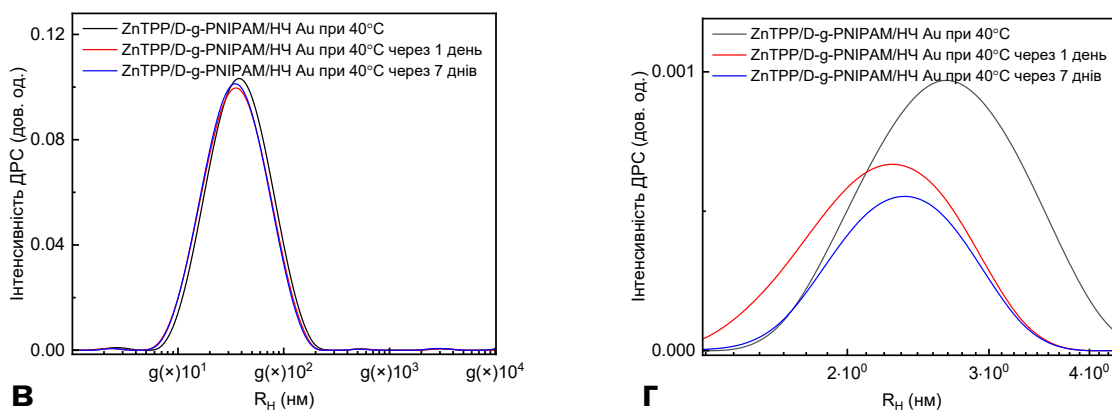
**Рис. 5.2.** Розподіл частинок за розмірами для різних розчинів при 25 °С (а); потрійна система ZnTPP/D-g-PNIPAM/HЧ Au при 25, 34 та 40 °С (б); ZnTPP/D-g-PNIPAM при 25, 34 та 40 °С (в).

Розподіл частинок за розмірами для трикомпонентної системи за різних температур, рис. 5.2 (б), показує, що основний пік високої інтенсивності зміщується в бік меншого радіусу від 39 до 33 нм при підвищенні температури від кімнатної 25 °С до точки LCST переходу котра становить 34 °С. З подальшим підвищенням температури цей пік зміщується назад до 39 нм. Спостережувана зміна розміру при температурно-індукованому LCST переході зумовлена скороченням ланцюгів PNIPAM у гібридній наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/HЧAu. Такий ефект досліджувався для багатоконпонентних гібридних наносистем на основі D-g-PNIPAM у роботах

[41, 42, 52, 88, 89]. Важливо зазначити, що присутність додаткових компонентів у гібридних макромолекулах на основі D-g-PNIPAM запобігає агрегації системи при LCST переході, що спостерігається для чистого D-g-PNIPAM, як видно з рис. 5.2 (а). Цей ефект був досліджений і пояснений в роботі [52]. Як видно з рис. 5.2 (в), аналогічний процес відбувається під час нагрівання системи ZnTPP/D-g-PNIPAM у діапазоні температур 25–40 °С, коли радіус ZnTPP/D-g-PNIPAM поступово зменшується від 61 до 38 нм і агрегації не спостерігається.

Також був досліджений можливий ефект старіння наносистеми ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Змін в розподілі частинок за розмірами не було виявлено протягом періоду спостереження до 7 днів та при зміні температури в діапазоні 25–40 °С, як показано на рис. 5.3 (а), (б), (в). Більше того, зберігання зразка не призвело до жодної зміни розподілу за розмірами при LCST переході. При 40 °С так само можна бачити чітко виражений та відтворюваний пік НЧ Au на 2–3 нм, незважаючи на низьку інтенсивність цього піку, як показано на рис. 5.3 (г).



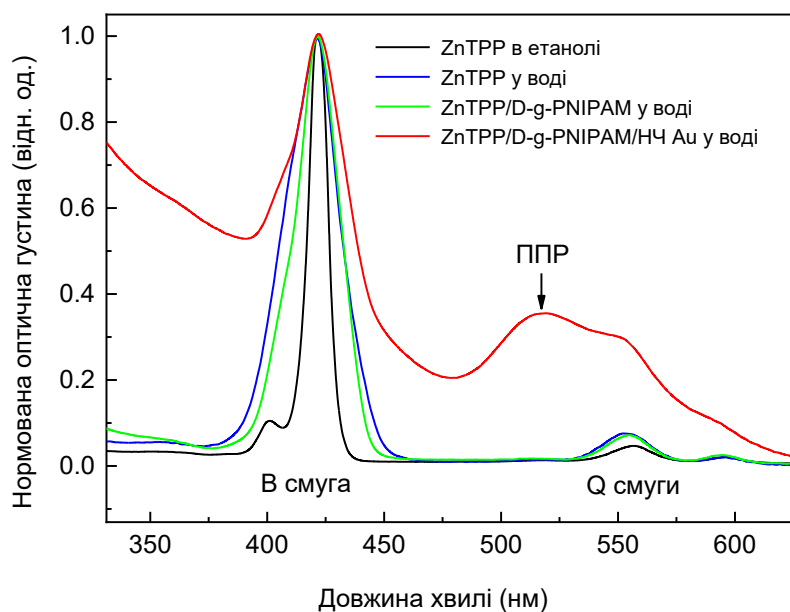


**Рис. 5.3.** Розподіли частинок за розмірами для ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au у свіжих розчинах та через 1 та 7 днів, виміряні за температур 25°C (а), 34°C (б) та 40°C (в); малоінтенсивний пік НЧ Au (г).

### 5.1.2 Спектральні прояви зв'язування ZnTPP з полімерними макромолекулами D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au

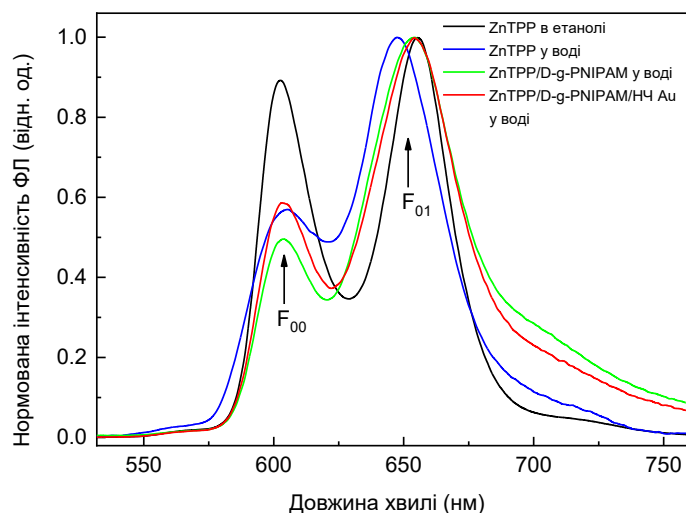
Дослідження спектрів поглинання проводилося у розчині фотосенсибілізатора ZnTPP в етанолі, суміші етанольного розчину ZnTPP з водою, водних розчинах полімеру D-g-PNIPAM та гібридної наносистеми D-g-PNIPAM/НЧ Au, отримані спектри представлені на рис. 5.4. Далі суміш етанольного розчину ZnTPP з водою та водні розчини D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au називатимемо просто водними розчинами ZnTPP, ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au відповідно. Спектр поглинання ZnTPP в етанолі, рис. 5.4, має структуру, типову для порфіринів в органічних розчинниках. А саме, спектр містить низькоінтенсивні низькоенергетичні (530–620 нм) Q-смуги та інтенсивну високоенергетичну (380–440 нм) В смугу (смугу Core) [62–65]. Водний розчин ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au має смугу поглинання ППР НЧ Au з максимумом на 520 нм, рис. 5.4. Відповідну смугу ППР чітко видно в спектрі поглинання еталонного водного розчину D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 5.4, що доводить його плазмонну природу. Спектри поглинання та ФЛ полімеру D-g-PNIPAM знаходяться в УФ-діапазоні на

довжинах хвиль коротших за 250 нм, що знаходиться поза спектральним діапазоном, який ми розглядаємо.



**Рис. 5.4** Нормовані спектри поглинання ZnTPP в етанолі, ZnTPP в етанолі, змішаному з водою, а також водних розчинів ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

Також були виміряні спектри ФЛ для етанольного розчину ZnTPP, сумішей етанольного розчину ZnTPP з водою та водними розчинами D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 5.5. Спектр ФЛ етанольного розчину ZnTPP має структуру, типову для порфіринів в органічних розчинниках. У спектрі ФЛ присутні високоенергетична (602 нм)  $F_{00}$  та низькоенергетична (655 нм)  $F_{01}$  смуги [63,64].

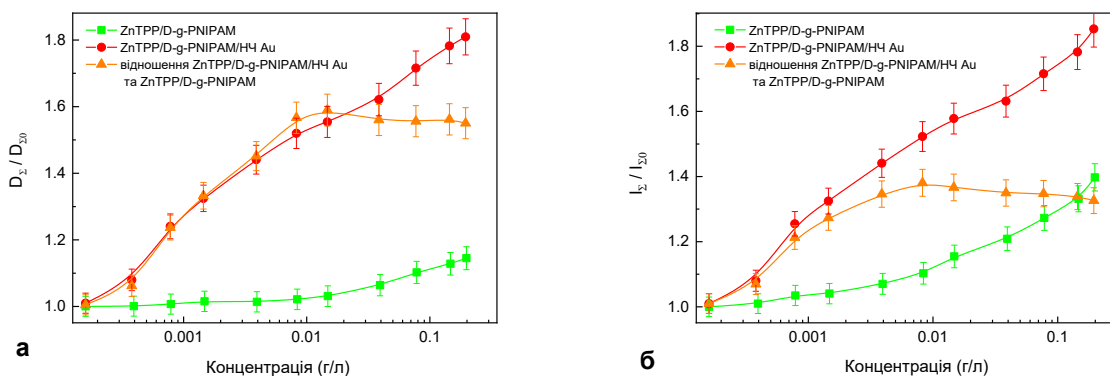


**Рис. 5.5.** Нормовані спектри ФЛ ZnTPP в етанолі, ZnTPP в етанолі, змішаному з водою, а також водних розчинах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Збудження: 421 нм; концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

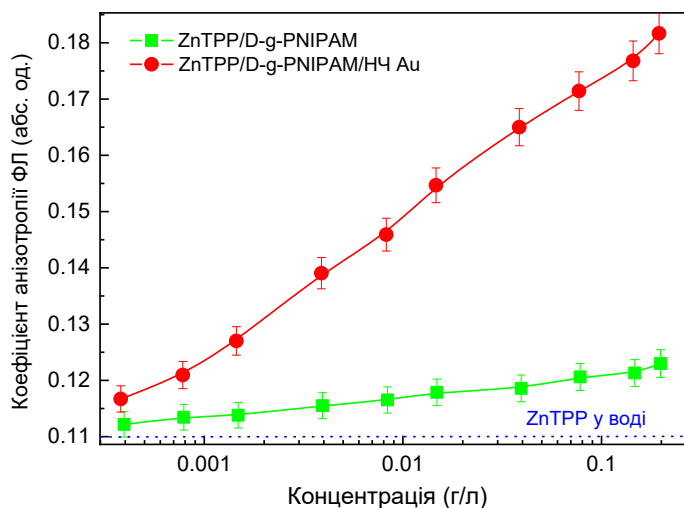
Змішування етанольного розчину ZnTPP з водою призводить до значних змін форми та інтенсивності спектрів поглинання та ФЛ, рис. 5.4 та рис. 5.5. Такі зміни виникають внаслідок агрегації гідрофобних молекул ZnTPP у воді. Однак, змішування етанольного розчину ZnTPP з водними розчинами D-g-PNIPAM та особливо D-g-PNIPAM/НЧ Au призводить до зворотних змін у спектрах поглинання та ФЛ. Найімовірніше, це пов'язано зі зв'язуванням молекул ZnTPP з полімером D-g-PNIPAM та особливо з наногібридами D-g-PNIPAM/НЧ Au. Видно, що зв'язування збільшує розчинність ZnTPP у воді. Воно зменшує розмір агрегатів ZnTPP, що повністю узгоджується з даними динамічного розсіяння світла, рис. 5.2 (а). Зміни спектрів поглинання та ФЛ детально обговорюються нижче.

Відповідно, виходячи з факту суттєвих трансформацій спектрів поглинання та ФЛ, що відбуваються при змішуванні, можна зробити висновок, що молекули ZnTPP зв'язуються з макромолекулами D-g-PNIPAM та D-g-

PNIPAM/НЧ Au, причому зв'язування відрізняється за наявності та відсутності НЧ Au. Такий висновок також підтверджується даними вимірювань анізотропії ФЛ, які наведено та обговорено нижче. Видно, що у водних середовищах агрегація ZnTPP найслабша в розчині ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Тому можна очікувати, що біологічна активність фотосенсибілізатора ZnTPP буде найвищою у водному розчині ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au.



**Рис. 5.6.** Залежність нормованої інтегральної оптичної густини **(а)** та інтегральної інтенсивності ФЛ **(б)** ZnTPP у водних розчинах ZnTPP/D-g-PNIPAM (квадрати) та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (кола) від концентрації полімеру та золота відповідно. Трикутники – залежність відношення оптичних густин та, відповідно, інтенсивностей ФЛ ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM від концентрації золота, що характеризує вплив наночастинок Au на ФЛ ZnTPP у гібридній наносистемі. Оптична густина та інтенсивність ФЛ нормовані до відповідних значень для ZnTPP у водному розчині. Концентрація ZnTPP становить 0,001 г/л.



**Рис. 5.7.** Концентраційна залежність анізотропії ФЛ для ZnTPP у водних розчинах ZnTPP/D-g-PNIPAM (квадрати) та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (кола). Квадрати та кола показують залежність від концентрації D-g-PNIPAM та НЧ Au відповідно. Концентрація ZnTPP становить 0,001 г/л. Синя пунктирна лінія відповідає ZnTPP у воді.

### 5.1.3 Концентраційні залежності спектрів поглинання та фотолюмінесценції ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au

Особливості взаємодії молекул ZnTPP з D-g-PNIPAM та наночастинками Au у гібридних макромолекулах були виявлені шляхом дослідження впливу концентрацій фотосенсибілізатора, полімеру та золота на оптичні спектри наногібридів. Зв'язок спектрів поглинання та ФЛ ZnTPP в етанолі та воді з його концентрацією досліджений в роботах [49, 51]. Залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP в етанольному розчині від концентрації ZnTPP виявилася немонотонною, з максимальною інтенсивністю ФЛ за концентрації ZnTPP 0,005 г/л. Така немонотонна залежність зумовлена агрегацією молекул ZnTPP при високих концентраціях. Подібно до ZnTPP в етанолі, залежність інтенсивності ФЛ ZnTPP у водному розчині від концентрації ZnTPP також є немонотонною, з максимальною інтенсивністю

ФЛ за концентрації ZnTPP 0,0025 г/л. Нижча концентрація водного розчину ZnTPP при максимальній інтенсивності ФЛ зумовлена гідрофобністю молекул фотосенсибілізатора, що сприяє агрегації. Виходячи з цих даних, для подальших вимірювань була обрана концентрація ZnTPP 0,001 г/л. Ця концентрація відповідає середині зростаючої лінійної області залежності, тобто достатньо низьким концентраціям, при яких агрегація досить незначна.

Також було досліджено вплив концентрації полімеру та Au на величину поглинання (інтегральна оптична густина – інтегрована по всьому спектру поглинання) та ФЛ (інтегральна інтенсивність ФЛ – інтегрована по всьому спектру ФЛ) ZnTPP у водних розчинах наногібридів ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 5.6 (а), (б) відповідно. Оптична густина та інтенсивність ФЛ при різних концентраціях були нормовані відносно ZnTPP у водному розчині. Як показано на рис. 5.6, концентраційні залежності оптичної густини та інтенсивності ФЛ є подібними. Тому далі аналізується лише концентраційна залежність інтенсивності ФЛ. Залежності інтенсивності ФЛ ZnTPP від концентрації D-g-PNIPAM для ZnTPP/D-g-PNIPAM, а також від концентрації Au для наносистем ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au є монотонно зростаючими в усьому досліджуваному діапазоні концентрацій, рис. 5.6. Виходячи з вищезазначеного, такі залежності можна пояснити тим фактом, що як D-g-PNIPAM, так і D-g-PNIPAM/НЧ Au пригнічують агрегацію молекул ZnTPP у водному середовищі. При цьому цей ефект значно сильніший для наносистем, що містять наночастинки Au. Щоб підкреслити вплив концентрації наночастинок Au на інтенсивність ФЛ ZnTPP, було розраховано відношення концентраційних залежностей для ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM (рис. 5.6, трикутники). По суті, це відношення являє собою коефіцієнт плазмонного підсилення ФЛ. Видно, що інтенсивність ФЛ зростає в 1,4 рази в діапазоні концентрацій 0–0,008 г/л, досягає максимуму, а потім зменшується до 1,33 при подальшому збільшенні концентрації до 0,2 г/л. Спостережуване плазмонне підсилення ФЛ молекул фотосенсибілізатора в наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au вказує на те, що молекули ZnTPP та

наночастинки Au досить близько розташовані всередині макромолекули полімеру, що пов'язано зі зв'язуванням молекул ZnTPP з гібридними макромолекулами D-g-PNIPAM/НЧ Au.

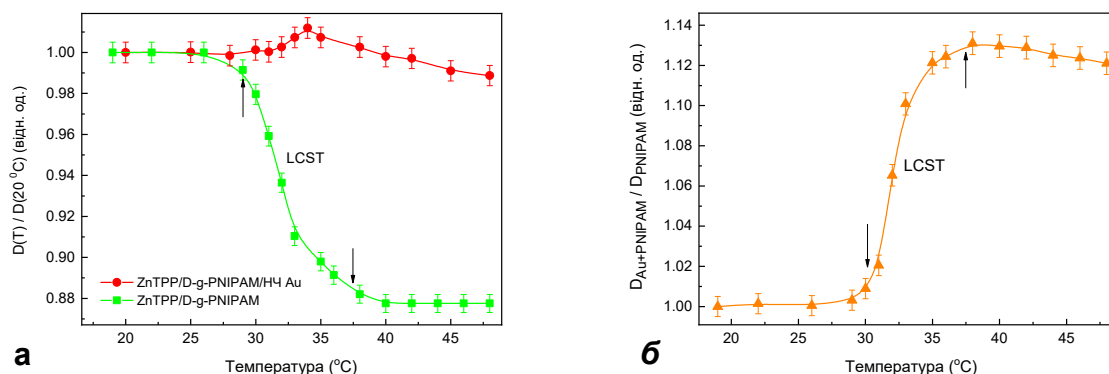
Були проаналізовані фізичні механізми впливу наночастинок Au на ФЛ ZnTPP у гібридних макромолекулах. Змінюючи концентрацію наночастинок Au, ми тим самим змінюємо середню відстань молекула ZnTPP – НЧ Au всередині макромолекули D-g-PNIPAM. Зміна відстані впливає на інтенсивність взаємодії наночастинок Au та молекул ZnTPP [7, 17, 22, 66, 67]. Інтенсивність взаємодії сильно залежить від перекриття смуги поглинання ППР у металевих наночастинках та електронного енергетичного спектру молекули флюорофора. Зв'язок сильніший на менших відстанях та більшому спектральному перекритті. Вище зазначалося, що молекули ZnTPP та наночастинки Au розташовані близько один до одного всередині мережі гібридних макромолекул. Крім того, спостерігається значне перекриття смуги поглинання ППР наночастинок Au зі спектрами поглинання та ФЛ молекул ZnTPP, рис. 5.4 та 5.5. Таким чином, очікуваною є досить інтенсивна взаємодія наночастинок Au з молекулами ZnTPP у наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Як говорилося в попередньому розділі, існують два конкуруючі фізичні механізми для пари донор (молекула барвника-флюорофор)-акцептор (наночастинка металу), які впливають на інтенсивність ФЛ барвника. Перший механізм – це плазмонне підсилення. Воно стає інтенсивнішим зі зменшенням відстані між молекулою та наночастиною металу [7, 17, 22, 66, 67, 68]. Амплітуда плазмонного поля залежить від відстані від наночастинок металу як  $E_{sp} \propto R^{-3}$  [68]. Другий механізм – це безвипромінювальне резонансне фьорстерівське перенесення енергії (FRET) від збудженого донора (молекули флюорофора) до акцептора (наночастинка металу) внаслідок диполь-дипольної взаємодії [7, 17, 22, 68, 69]. FRET призводить до гасіння ФЛ. Швидкість гасіння ФЛ залежить від відстані між донором та акцептором як  $\gamma_{FRET} \propto R^{-6}$  [69]. Така залежність обмежує FRET відстанями нижче 10 нм. Конкуренція між плазмонним підсиленням та гасінням FRET призводить до

існування оптимальної відстані між наночастинками (близько 10 нм), що забезпечує найвищу інтенсивність ФЛ [7]. На відстанях менше 10 нм невелике зменшення відстані викликає сильне гасіння ФЛ. Тим часом, на відстанях більше 10 нм зменшення відстані викликає підсилення ФЛ.

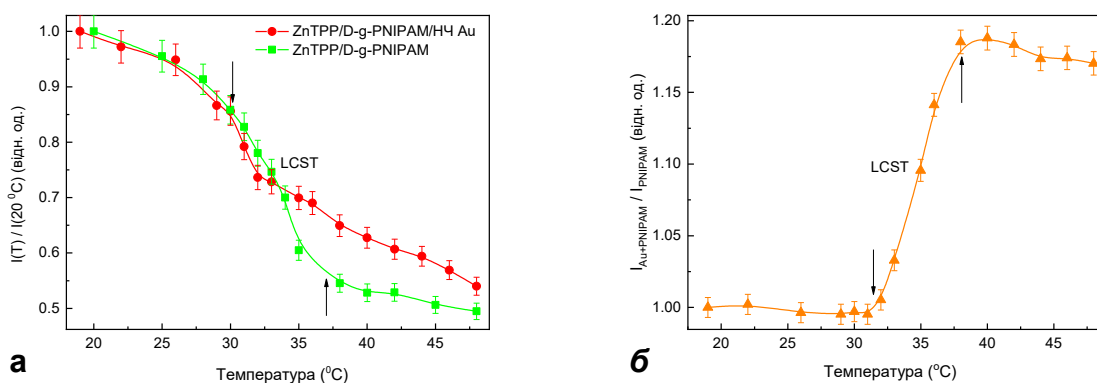
Таким чином, при нижчих концентраціях наночастинок Au в діапазоні 0–0,008 г/л відстань ZnTPP–НЧ Au занадто велика для FRET. Збільшення концентрації наночастинок Au призводить до скорочення відстані молекула ZnTPP–НЧ Au, що призводить до сильнішого плазмонного підсилення ФЛ. При концентраціях наночастинок Au вище 0,008 г/л відстань молекула ZnTPP–НЧ Au стає достатньо малою для ефективного протікання FRET, що призводить до гасіння ФЛ зі збільшенням концентрації наночастинок Au. Отже, можна зробити висновок, що існує певна оптимальна концентрація наночастинок золота, яка забезпечує найвище плазмонне підсилення оптичних процесів, в яких беруть участь молекули фотосенсибілізатора ZnTPP, зокрема поглинання світла, фотолюмінесценції та генерації синглетного кисню.

Припущення щодо зв'язування молекул ZnTPP з D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au також було перевірено шляхом вимірювання анізотропії ФЛ  $r$ . Анізотропія ФЛ вказує на те, наскільки обмежена молекула у своєму русі. Для молекул ZnTPP у розчині етанолу  $r = 0,007$ , що вказує на майже вільний рух молекул ZnTPP в етанолі. Однак для молекул ZnTPP у воді  $r = 0,110$ , що вказує на вищу обмеженість руху молекул ZnTPP у воді. Найвірогідніше, це пов'язано з утворенням агрегатів ZnTPP. Змішування ZnTPP з водним розчином D-g-PNIPAM призводить до подальшого збільшення анізотропії ФЛ, яка збільшується від 0,112 до 0,123 зі збільшенням концентрації полімеру в діапазоні 0,00039–0,198 г/л, рис. 5.7. Тим часом, у водному розчині ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, анізотропія ФЛ збільшується від 0,117 до 0,182 зі збільшенням концентрації золота в діапазоні 0,00039–0,195 г/л, рис. 5.7. Таким чином, отримані результати доводять факт зв'язування молекул ZnTPP як з макромолекулами D-g-PNIPAM, так і з гібридними макромолекулами D-g-PNIPAM/НЧ Au. Таким чином, дані вимірювань анізотропії ФЛ вказують на

те, що молекули ZnTPP краще зв'язуються з гібридними макромолекулами, що містять наночастинки Au, що повністю узгоджується з даними, отриманими зі спектрів поглинання та ФЛ гібридів ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 5.4 та 5.5.



**Рис. 5.8.** (а) – Залежність інтегральної оптичної густини (смуги В та Q) від температури для ZnTPP у водних розчинах ZnTPP/D-g-PNIPAM (квадрати) та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (кола) під час нагрівання. (б) – Залежність відношення інтегральної оптичної густини для ZnTPP у ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM від температури, що характеризує вплив наночастинок Au на поглинання світла молекулами ZnTPP у наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Оптична густина нормована за значенням при 20 °С. Стрілки показують діапазон LCST переходу. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

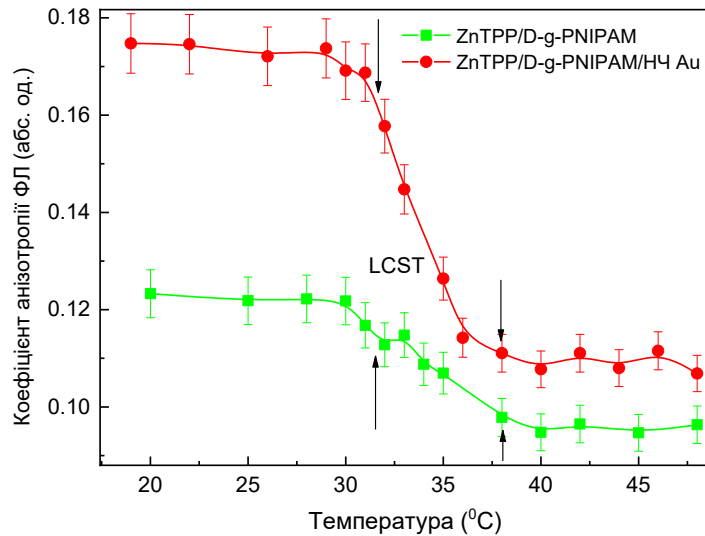


**Рис. 5.9.** (а) – Температурна залежність інтегральної інтенсивності ФЛ для водних розчинів ZnTPP/D-g-PNIPAM (квадрати) та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (кола) під час нагрівання. (б) – Залежність відношення інтегральної інтенсивності ФЛ для ZnTPP у ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM від температури, що характеризує вплив наночастинок Au на поглинання світла молекулами ZnTPP у наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Інтенсивність ФЛ нормована за значенням при 20 °С. Стрілки показують діапазон LCST переходу. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

Au (кола) під час нагрівання. (б) – Температурна залежність відношення інтегральних інтенсивностей ФЛ для ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM, що характеризує вплив наночастинок Au на ФЛ ZnTPP у наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Інтенсивність ФЛ нормована за значенням при 20 °С. Стрілки показують діапазон LCST переходу. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

#### **5.1.4 Температурно індуквані процеси в гібридних наносистемах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au**

Оскільки PNIPAM є термочутливим полімером, логічно очікувати, що фазовий LCST перехід повинен викликати термічно індуквані процеси в системах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Відповідні перетворення були досліджені за допомогою спектроскопії оптичного поглинання (рис. 5.8) та ФЛ (рис. 5.9) молекул ZnTPP у водних розчинах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Було виявлено, що під час нагрівання проходження через точку LCST переходу призводить до зменшення поглинання світла ZnTPP в ZnTPP/D-g-PNIPAM в 1,14 рази, тоді як температурна залежність поглинання світла ZnTPP в ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au є немонотонною зі слабо вираженим максимумом у точці LCST переходу, рис. 5.8 (а). Тим часом, проходження через точку LCST переходу під час нагрівання призводить до гасіння ФЛ як для ZnTPP/D-g-PNIPAM, так і для ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 5.9 (а). Видно, що гасіння сильніше для ZnTPP в ZnTPP/D-g-PNIPAM, ніж в ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Інтенсивність ФЛ зменшується в 2,02 та 1,85 рази, при нагріванні зразка від 20 до 48 °С для ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au відповідно. Вплив температури на поглинання світла та ФЛ особливо сильний в області точки LCST переходу, тобто при температурі близько 35 °С.



**Рис. 5.10.** Температурна залежність коефіцієнта анізотропії ФЛ для ZnTPP у водних розчинах ZnTPP/D-g-PNIPAM (квадрати) та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (кола) під час нагрівання. Стрілки показують область LCST переходу. Концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

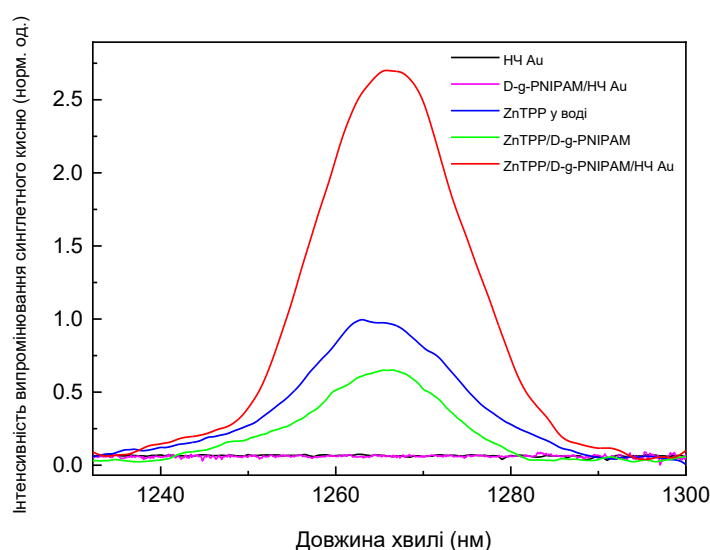
Спостережувана поведінка температурних залежностей поглинання та ФЛ в температурній області LCST переходу може бути викликана трьома фізичними механізмами. Перший – це вивільнення молекул фотосенсибілізатора з макромолекули полімеру внаслідок її скорочення при LCST переході. А саме, вивільнені молекули ZnTPP розташовані далеко від наночастинок Au в просторових областях, де плазмонне поле достатньо слабе, щоб підсилити ФЛ. Таким чином, вивільнення ZnTPP повинно призвести до різкого зменшення плазмонного підсилення та, відповідно, до зменшення поглинання світла та гасіння ФЛ. Другий – це виникнення FRET, що виникає через різке зменшення відстані між молекулами ZnTPP та наночастинками Au, що залишаються зв'язаними з макромолекулою полімеру під час її скорочення. Це призводить до гасіння ФЛ при LCST переході. В той же час, скорочення відстані між молекулами ZnTPP та наночастинками Au, зв'язаними з D-g-PNIPAM, також може призводити до протилежного процесу

(третій механізм), а саме до посилення плазмонного підсилення поглинання світла та ФЛ молекулами ZnTPP, зв'язаними з полімером.

Щоб з'ясувати, які фізичні механізми є домінуючими, було виміряно температурну залежність анізотропії ФЛ, рис. 5.10. Чітко видно, що LCST перехід призводить до різкого зменшення анізотропії ФЛ з 0,12 до 0,09 для ZnTPP/D-g-PNIPAM та з 0,17 до 0,11 для ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Спостережуване різке зменшення анізотропії ФЛ доводить факт вивільнення молекул ZnTPP, коли макромолекула полімеру стискається. Можна очікувати, що стискання полімеру також призводить до вивільнення наночастинок Au. Таким чином, зробимо висновок, що такі наносистеми як ZnTPP/D-g-PNIPAM, і ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au є перспективними для температурно індукованого та контрольованого вивільнення ліків.

Для порівняння впливу FRET та плазмонного підсилення на поглинання світла було розраховано та представлено на рис. 5.8 (б) температурну залежність відношення інтегральних оптичних густин для ZnTPP в ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та в ZnTPP/D-g-PNIPAM. Відповідно, для порівняння впливу FRET та плазмонного підсилення на інтенсивність ФЛ, розраховано та представлено на рис. 5.9 (б) температурну залежність відношення інтегральних інтенсивностей ФЛ для ZnTPP в ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM. Концентраційні залежності цих відношень характеризують вплив наночастинок Au на поглинання світла та ФЛ молекулами ZnTPP, зв'язаними з полімером. Вільні молекули ZnTPP не дають внеску в цю залежність. На рис. 5.8 (б) та рис. 5.9 (б) показано, що зменшення макромолекули полімеру при фазовому переході викликає різке збільшення поглинання світла та інтенсивності ФЛ для молекул ZnTPP, зв'язаних з гібридною макромолекулою D-g-PNIPAM/НЧ Au, порівняно з молекулами ZnTPP, зв'язаними з макромолекулою чистого D-g-PNIPAM. Спостережуване збільшення відносної оптичної густини та відносної інтенсивності ФЛ зумовлене збільшенням інтенсивності плазмонного підсилення, яке викликане скороченням середньої відстані між наночастинками Au та молекулами

ZnTPP, зв'язаними з макромолекулою полімеру. Таким чином, можна зробити висновок, що плазмонне підсилення переважає над FRET при температурно-індукованому фазовому переході при визначених оптимальних концентраціях ZnTPP та Au. Імовірно, що виявлене температурно-індуковане збільшення плазмонного підсилення також повинно призводити до підвищення ефективності генерації синглетного кисню в ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au при фазовому переході, про що йдеться далі. Таким чином, підсумовуючи отримані дані, видно що температурно-індукований LCST перехід у наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au призводить до вивільнення молекул ZnTPP та НЧ Au з макромолекули, а також до посилення плазмонного підсилення оптичних процесів у молекулах ZnTPP, зв'язаних з макромолекулами полімеру. Обидва ці процеси потенційно роблять наносистему ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au досить ефективною для термічно керованих та контрольованих застосувань у фотодинамічній терапії.



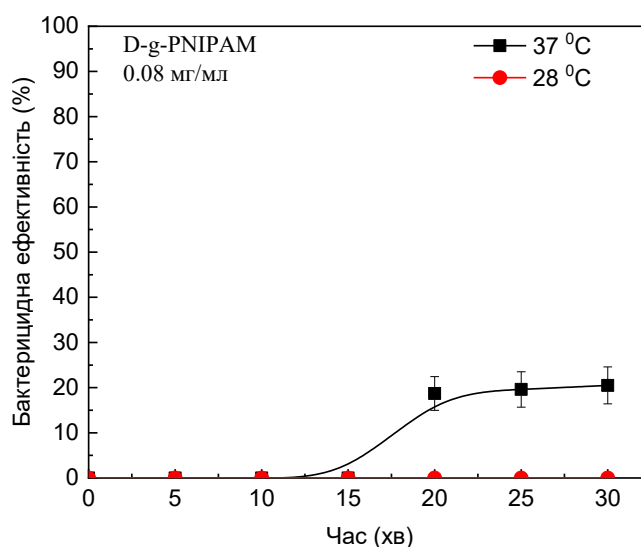
**Рис. 5.11.** Спектри випромінювання синглетного кисню для водних розчинів ZnTPP, ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Водні розчини D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au без ZnTPP не демонструють випромінювання синглетного кисню. Збудження 553 нм; концентрації: ZnTPP – 0,001 г/л, D-g-PNIPAM – 0,078 г/л, Au – 0,077 г/л.

### 5.1.5 Підсилення генерації синглетного кисню в гібридних наносистемах ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au

Важливою характеристикою ефективності молекулярних систем для використання у фотодинамічній терапії є ефективність фотогенерації синглетного кисню. На рис. 5.11 показано виміряні спектри випромінювання синглетного кисню водними розчинами систем ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, а також еталонні спектри водних розчинів ZnTPP, D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au. Видно, що водні розчини D-g-PNIPAM та D-g-PNIPAM/НЧ Au без ZnTPP не демонструють випромінювання синглетного кисню. В той же час спектри систем, що містять ZnTPP, демонструють пік випромінювання на 1270 нм, характерний для синглетного кисню. Спектри випромінювання синглетного кисню були зареєстровані для зразків ZnTPP, ZnTPP/D-g-PNIPAM та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au при збудженні світлом з довжиною хвилі 421 нм (смуга Core), 553 нм та 595 нм (діапазон Q-смуг). При збудженні на 421 нм та 595 нм інтенсивність піків приблизно однакова для всіх систем, що містять ZnTPP. Крім того, при збудженні водних розчинів ZnTPP та ZnTPP/D-g-PNIPAM на 553 нм інтенсивність піків близька до відповідних значень, отриманих при збудженні на 421 нм та 595 нм. Однак, при збудженні розчину ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au світлом 553 нм спостерігається значне у 2,7 рази збільшення інтенсивності піку синглетного кисню. Враховуючи, що довжина хвилі 553 нм є резонансною з ППР в НЧ Au (520 нм), логічно зробити висновок, що таке підсилення фотогенерації синглетного кисню має плазмонну природу. Таким чином, спостережуване плазмонне підсилення фотогенерації синглетного кисню наногібридом ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au вказує на його потенціал для цілей фотодинамічної терапії, що також доводиться біологічними дослідженнями, обговореними далі.

### 5.1.6 Фотодинамічна антибактеріальна активність систем D-g-PNIPAM, D-g-PNIPAM/НЧ Au, ZnTPP/D-g-PNIPAM, ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au in vitro

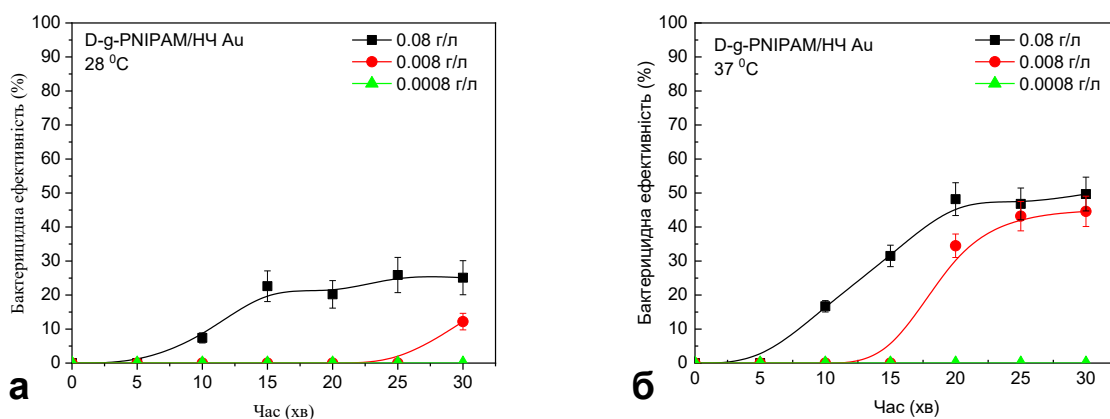
Термочутливі гідрогелеві системи вже використовуються як ін'єкційні гелеутворюючі матриці. У золь фазі до системи можуть бути включені терапевтичні агенти, а після ін'єкції в цільові тканини розчин перетворюється на гель і служить джерелом лікарського засобу. PNIPAM є одним з найпоширеніших полімерів цього типу. Було виявлено слабку цитотоксичність носія D-g-PNIPAM проти *S. aureus* при 37 °С, рис. 5.12. Результати узгоджуються з літературними даними [90, 91]. На рис. 5.12 – 5.18, був обраний однаковий масштаб осі Y для зручності кількісного порівняння бактерицидного ефекту за різних умов біологічних експериментів.



**Рис. 5.12.** Антибактеріальна активність водного розчину D-g-PNIPAM з концентрацією 0,08 г/л при 28 °С та 37 °С.

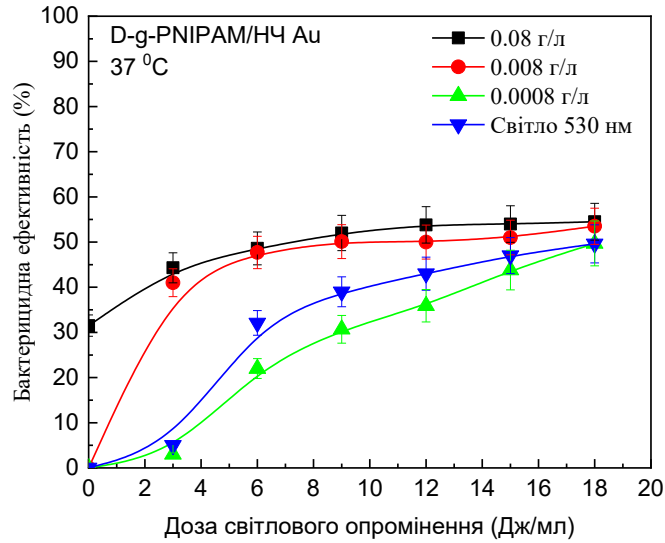
При концентрації полімеру D-g-PNIPAM 0,008 г/л токсичність проти *S. aureus* відсутня. Тому для подальших досліджень антибактеріальної активності гібридних наносистем було обрано концентрацію D-g-PNIPAM на рівні 0,008 г/л, щоб компенсувати токсичну дію полімеру та оцінити його

реакцію на зміни температури. Фазовий LCST перехід у D-g-PNIPAM відбувається при 33–34 °С. Отже, при 28 °С кополімер знаходиться у фазі гідрофільного золю, а при температурі людського тіла – у фазі гідрофобного гелю. Порівняння антибактеріальної активності за таких умов вказує на утримання наночастинок Au в D-g-PNIPAM при температурах нижче точки LCST, рис. 5.13. Спостерігалось зменшення кількості КУО на 45–50% при 37 °С для концентрацій Au 0,08 та 0,008 г/л через 25 хвилин. Таким чином, можна припустити, що скорочення макромолекули полімеру при фазовому переході призводить до вивільнення наночастинок Au у розчин.

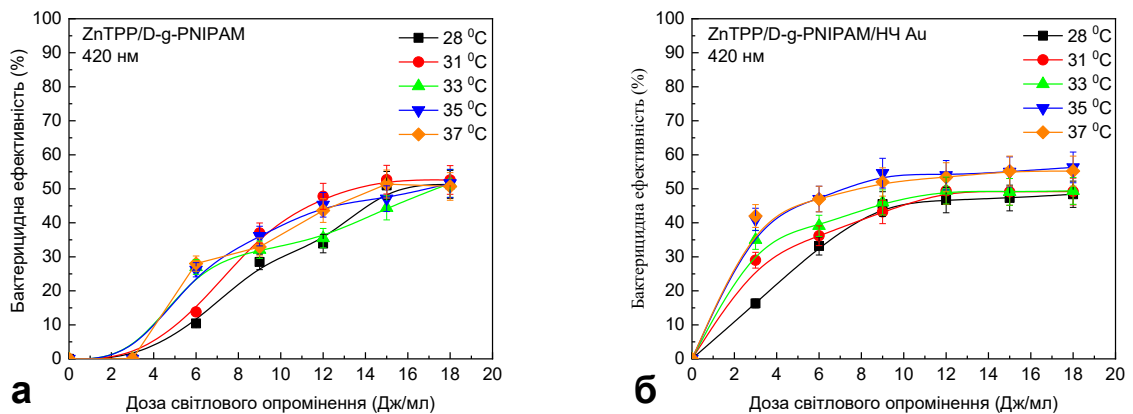


**Рис. 5.13.** Інактивація *S. aureus* за допомогою D-g-PNIPAM/НЧ Au при 28 °С (а) та 37 °С (б). Концентрації НЧ Au: 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л.

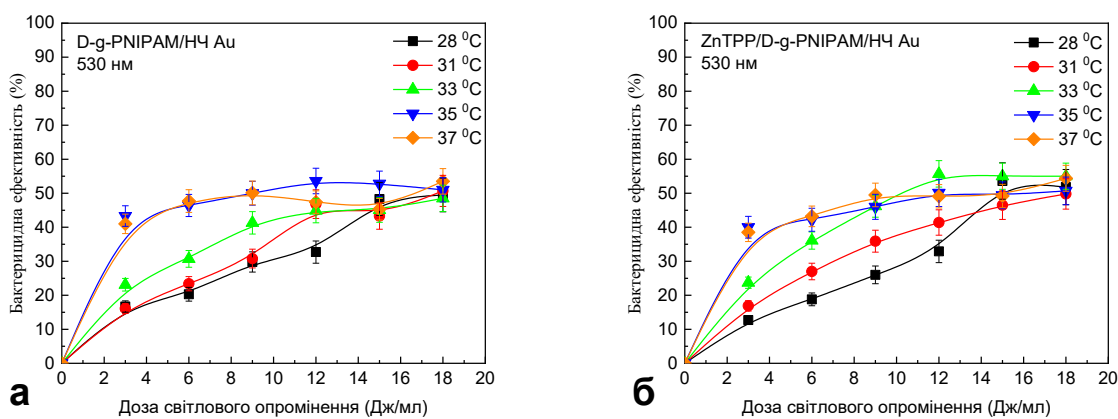
Інкубація суспензії *S. aureus* з водним розчином D-g-PNIPAM/НЧ Au з концентрації 0,08 г/л та опромінення світлом 530 нм мало вплинуло на антибактеріальну активність нанокompозиту при 37 °С, рис. 5.14. Однак, після зниження концентрації D-g-PNIPAM/НЧ Au до 0,008 г/л за аналогічних умов, початкова антибактеріальна активність нанокompозиту зросла на 40%.



**Рис. 5.14.** Інактивація *S. aureus* у суспензії при 37 °С після додавання D-g-PNIPAM/НЧ Au та опромінення світлом 530 нм залежно від дози опромінення. Концентрації НЧ Au: 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л. Потужність світла становила 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл.



**Рис. 5.15.** Інактивація *S. aureus* при 28, 31, 33, 35, 37 °С після додавання ZnTPP/D-g-PNIPAM (а), ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (б) та опромінення світлом 420 нм залежно від дози опромінення. Концентрації: Au та D-g-PNIPAM – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л. Потужність світла — 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл.

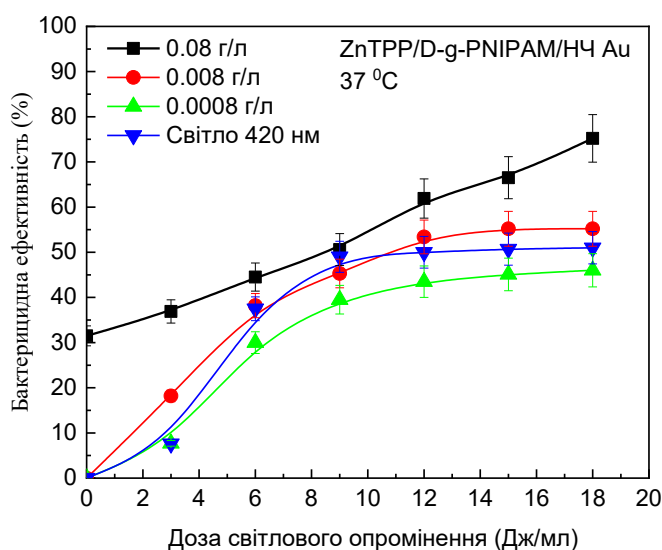


**Рис. 5.16.** Інактивація *S. aureus* при 28, 31, 33, 35, 37 °C після додавання D-g-PNIPAM/НЧ Au (**а**), ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au (**б**) та опромінення світлом 530 нм залежно від дози опромінення. Концентрації: Au та D-g-PNIPAM – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л. Потужність світла – 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл.

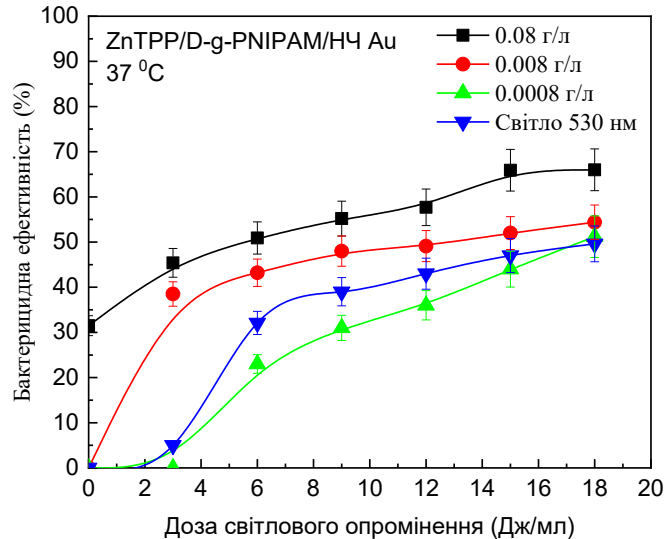
Виявлені ефекти можуть бути пов'язані з кількома факторами. Ймовірно, під час стиснення носія НЧ Au, тобто макромолекули D-g-PNIPAM, НЧ Au швидко вивільняються в розчин. Полімер, в свою чергу, стабілізує НЧ Au та запобігає їхній агрегації. Висока концентрація НЧ Au збільшує ймовірність їх зустрічі та утворення біологічно неактивних агрегатів. Опромінення світлом 530 нм може прискорити агрегацію за відсутності стабілізатора. Деякі дослідження підтверджують можливість агрегації під дією світла [31, 33, 71–73]. Зниження концентрації D-g-PNIPAM/НЧ Au зберігає необхідні антибактеріальні властивості при опроміненні світлом 530 нм, рис. 5.14.

Було виявлено низьку чутливість потрійної системи ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au до дії світла 420 нм при 37 °C, рис. 5.17. Тільки опромінення бактеріальної суспензії з концентрацією наноконцентрату концентрацією 0,08 г/л сприяє лінійному збільшенню бактерицидної активності від 33% до 75% залежно від використаної дози. Крім того, для концентрації наночастинок золота 0,008 г/л та дози опромінення 3 Дж/мл кількість КУО додатково зменшується на 25–30%. Імовірно, це пов'язано з особливостями носія. Після

фазового переходу він не сприяє доставці активних компонентів до бактеріальних клітин. Крім того, для інактивації бактеріальної клітини необхідно порушити життєво важливі структури, такі як ДНК, плазматична мембрана, ферменти тощо. Якщо наносистеми не проникають у клітини, а поглинаються клітинною стінкою або капсулою, пошкодження клітин не є критичним. Якщо такі взаємодії дійсно присутні, наноконізати можна використовувати як сенсори для виявлення мікроорганізмів [92]. Опромінення світлом 530 нм наноконізату ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au сприяє зміні кількості КУО, подібно до результатів для системи D-g-PNIPAM/НЧ Au, рис. 5.18.



**Рис. 5.17.** Інактивація *S. aureus* у суспензії при 37 °C після додавання ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та опромінення світлом 420 нм залежно від дози опромінення. Концентрації: Au – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л. Потужність світла – 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл.



**Рис. 5.18.** Інактивація *S. aureus* у суспензії при 37 °С після додавання ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au та опромінення світлом 530 нм залежно від дози опромінення. Концентрації: НЧ Au – 0,08 г/л, 0,008 г/л, 0,0008 г/л, ZnTPP – 0,001 г/л. Потужність світла – 0,1 Дж/с, доза опромінення – в діапазоні 3–18 Дж/мл з кроком 3 Дж/мл.

Результати показують, що за таких умов наночастинки золота відіграють вирішальну роль в антибактеріальній активності, а фотосенсибілізатор відіграє другорядну роль, принаймні при концентраціях, що використовувались. При опроміненні світлом антибактеріальна активність наноконструкцій залежить від температури. Зміна помітна при низьких дозах (3–6 Дж/мл) світлового опромінення, рис. 5.15. Немає помітних змін антибактеріальних властивостей при опроміненні синім світлом у дозах вище 6 Дж/мл. Присутність наночастинок золота допомагає підвищити чутливість наносистем до світла 420 нм, рис. 5.15 (б). Більш виражена температурна залежність також була виявлена для ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au. Це ще раз доводить вирішальну роль наночастинок золота в антибактеріальній активності. Результати, отримані при опроміненні наносистем D-g-PNIPAM/НЧ Au та ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au світлом 530 нм, резонансному

з ППР в наночастинках золота, підтверджують це припущення, рис. 5.16. Підвищення температури ближче до точки фазового LCST переходу призводить до поступового збільшення антибактеріальної активності. Антибактеріальні властивості були однаковими при 35 та 37 °С.

Отримані температурні залежності при опроміненні наносистем світлом 420 та 530 нм вказують на визначальну роль НЧ Au в інактивації мікроорганізмів. Фотосенсибілізатор відіграє другорядну роль у цьому процесі. Однак помітно, що при опроміненні світлом 420 нм, резонансним зі смугою поглинання Core у ZnTPP, та дозах опромінення нижче 10 Дж/мл антибактеріальна активність ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au суттєво вища, ніж у D-g-PNIPAM/НЧ Au, Рис. 5.15. Найімовірніше, цей ефект зумовлений плазмонним підсиленням генерації синглетного кисню молекулами ZnTPP, розташованими в плазмонному полі наночастинок золота.

Як вже було сказано, локальне плазмонне поле підсилює оптичні процеси в молекулах фотосенсибілізатора, розташованих у цьому полі. Було виявлено підсилення фотолюмінесценції ZnTPP у наносистемі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au з максимальним підсиленням ФЛ при концентрації НЧ Au 0,008 г/л, рис. 5.6. Іншим електронним процесом у молекулах ZnTPP, який піддається плазмонному підсиленню, є генерація синглетного кисню. Таке припущення підтверджується наступними спостереженнями. Рис. 5.15 показує, що за температур вище точки LCST антибактеріальна активність ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au вища порівняно з ZnTPP/D-g-PNIPAM. Дійсно, зменшення макромолекули при LCST переході призводить до зменшення відстані молекула ZnTPP–НЧ Au. В результаті, молекули ZnTPP стають розташованими в сильнішому плазмонному полі, що повинно спричинити подальше підсилення як генерації синглетного кисню, так і ФЛ молекулами ZnTPP. Підсилення фотогенерації синглетного кисню призводить до збільшення антибактеріальної активності. У свою чергу, як вже було сказано вище, LCST перехід призводить до підсилення ФЛ ZnTPP у системі ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au порівняно з ZnTPP/D-g-PNIPAM, рис. 5.15 (б).

Подвійні та потрійні термочутливі наносистеми на основі кополімеру D-g-PNIPAM з наночастинками Au та фотосенсибілізатором ZnTPP були опромінені малими дозами світла 420 та 530 нм. В результаті кількість КУО зменшилася на 50% протягом 20 хвилин. Цей бактерицидний ефект не такий сильний у порівнянні з антибіотиками або іншими антибактеріальними хімічними речовинами [93, 94]. Незважаючи на це, досліджувані наносистеми мають значний потенціал для використання як бактерицидних засобів широкого спектру дії зі знизеним ризиком розвитку резистентності у бактерій. Фазовий LCST перехід у D-g-PNIPAM забезпечує швидке збільшення біологічної активності наногібридів на основі D-g-PNIPAM за температур нижчих за фізіологічні. Враховуючи отримані результати щодо властивостей наногібрида ZnTPP/D-g-PNIPAM/НЧ Au, його можна наносити на поверхню тіла, рани або виразки для швидкої інактивації мікроорганізмів.

## Висновки до розділу 5.

У цьому розділі дисертаційної роботи представлено результати досліджень потрійних гібридних наносистем “термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід) – наночастинки Au – фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин”, які дозволили сформулювати наступні висновки:

- Шляхом спектроскопічних досліджень було отримано докази зв'язування молекул фотосенсибілізатора ZnTPP з макромолекулами D-g-PNIPAM/наночастинки золота;
- Була продемонстрована висока агрегаційна стабільність потрійної гібридної наносистеми, та значне (до 2.7 разів) підсилення фотогенерації синглетного кисню порівняно з вільним фотосенсибілізатором;
- Біологічні дослідження проведені *in vitro* на диких штаммах *Staphylococcus aureus*, довели потенціал такої наносистеми для швидкої інактивації мікроорганізмів, зокрема, значне підвищення бактерицидної ефективності наногібриду спостерігалось за температур вище точки LCST-переходу, що доводить, що така система має потенціал для термічно керованої та контрольованої фотодинамічної терапії.

## ВИСНОВКИ

В ході виконання дисертаційного дослідження було експериментально досліджено властивості потрійних гібридних наносистем “полімер – наночастинки металу – флюорофор” та впливу плазмонних ефектів на ці властивості. Як полімерні компоненти було використано декстран-поліакриламід, декстран-поліакриламід в аніонній формі та термочутливий полімер декстран-полі(N-ІзоПропілАкрилАмід). Як флюорофор використовувалися органічний барвник перілендіїмід, фотосенсибілізатор цинк-тетрафенілпорфірин, а також квантові точки CdTe. Використовувалися сферичні плазмонні металеві наночастинки Au та Ag. Узагальнюючи отримані результати досліджень, можна зробити такі висновки:

1. Методами оптичної спектроскопії було доведено факт зв'язування молекул флюорофорів з гібридними макромолекулами “полімер – наночастинки металу” в усіх досліджених наносистемах, що призводить до суттєвого впливу локального плазмонного поля металевих наночастинок на молекули флюорофора, яка проявляється у збільшенні інтенсивності поглинання та випромінювання світла флюорофорами.
2. Шляхом досліджень концентраційних залежностей спектральних властивостей потрійних гібридних наносистем, що містять фотосенсибілізатор ZnTPP, було визначено оптимальні концентрації компонентів, які дозволяють уникнути надмірної агрегації гідрофобних молекул фотосенсибілізатора, але при цьому дозволяють отримати суттєве підсилення оптичних процесів у них.
3. Було показано, що існування оптимальних відносних концентрацій наночастинок металу та молекул-флюорофорів PDI та ZnTPP зумовлене впливом двох конкуруючих фізичних механізмів – плазмонного підсилення та безвипромінювальної передачі збудження від флюорофора до металевої наночастинок.

4. Усі досліджені наносистеми виявилися досить стабільними в часі внаслідок проникненням флюорофорів всередину гібридних макромолекул “полімер – наночастинки металу” з подальшим зв’язуванням з ними. Це запобігало швидкому окисленню молекул фотосенсибілізатора, що дозволяє використовувати такі системи навіть через кілька днів після їх приготування.
5. Для систем D-g-PNIPAM/НЧ Au/КТ CdTe спостерігалось розщеплення піку поглинання, що вказує на утворення плекситонів - квазічастинок, що виникають внаслідок гібридизації станів поверхневих плазмонів у наночастинках Au та екситонів у квантових точках CdTe. Оскільки плекситонне розщеплення (0,84 eV) значно більше, ніж комбінована спектральна ширина піків плазмона та екситона (0,11 eV), був зроблений висновок про існування в такій системі сильного плазмон-екситонного зв’язку.
6. Для систем на основі термочутливого полімеру D-g-PNIPAM було показано можливість шляхом зміни температури в області фазового конформаційного LCST-переходу суттєво змінювати відстань між металевими наночастинками (Au, Ag) та молекулами флюорофорів (КТ CdTe, барвник PDI та фотосенсибілізатор ZnTPP). Зміна відстані призводить до зміни відносного впливу явищ плазмонного підсилення та безвипромінювальної передачі енергії, що призводить до сильної температурної модуляції інтенсивності фотолюмінесценції флюорофорів.
7. Для наносистеми D-g-PNIPAM / ZnTPP термоіндукований LCST-перехід призводить до помітного збільшення фотодинамічної активності молекул фотосенсибілізатора, що спричиняє значне підвищення бактерицидної ефективності наногібриду, зокрема при низьких дозах опромінення.
8. У результаті досліджень було доведено високу фотодинамічну ефективність наносистем на основі фотосенсибілізатора ZnTPP,

полімерів D-g-PAA, D-g-PAAan, D-g-PNIPAM та наночастинок Au і Ag. Бактерицидна та протипухлинна ефективність таких потрійних гібридних наносистем виявилася вищою, ніж сумарна ефективність окремих компонент системи, що свідчить про високий потенціал для їх застосування у фотодинамічній терапії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1]. M. Faraday, X. The Bakerian Lecture. — Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Phil. Trans. R. Soc.* 1857; (147): 145–181. DOI:10.1098/rstl.1857.0011
- [2]. E. Petryayeva, U. J. Krull, Localized surface plasmon resonance: Nanostructures, bioassays and biosensing—A review, *Analytica Chimica Acta*, 2011, Volume 706, Issue 1, P. 8-24. DOI: 10.1016/j.aca.2011.08.020
- [3]. J. Yguerabide, E. E. Yguerabide, Light-Scattering Submicroscopic Particles as Highly Fluorescent Analogs and Their Use as Tracer Labels in Clinical and Biological Applications: II. Experimental Characterization, *Analytical Biochemistry*, 1998, Volume 262, Issue 2, P. 157-176. DOI: 10.1006/abio.1998.2760
- [4]. Mie, G. Beiträge zur optik trüber medien, speziell kolloidaler metallösungen. *Annalen der physic*, Series IV, 1908, V. 330, P. 377-445. DOI: 10.1002/andp.19083300302
- [5]. O. A. Єщенко, *Plasmonics*. Київ: Київ: Фенікс, 2013.
- [6]. T. Maurer, P. M. Adam, and G. Lévêque, “Coupling between plasmonic films and nanostructures: From basics to applications,” *Nanophotonics*, 2015, vol. 4, no. 1, pp. 363–382. DOI: 10.1515/nanoph-2014-0015.
- [7]. P. Anger, P. Bharadwaj, L. Novotny, Enhancement and Quenching of Single-Molecule Fluorescence, *Phys. Rev. Lett.*, 2006, vol. 96, issue 11, p. 113002. DOI: 10.1103/PhysRevLett.96.113002
- [8]. Y. Zhang, K. Aslan, M. Prevote, C. Geddes, Metal-enhanced fluorescence: Surface plasmons can radiate a fluorophore’s structured emission. *Applied Physics Letters*, 2007. V. 90. P. 053107 - 053107. DOI: 10.1063/1.2435661.
- [9]. P. Bharadwaj, B. Deutsch, L. Novotny, "Optical Antennas," *Adv. Opt. Photon*, 2009, V. 1, P. 438-483. DOI: 10.1364/AOP.1.000438
- [10]. K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R.R. Dasari, M.S. Feld, Surface-enhanced Raman scattering and biophysics, *J Phys Cond Mat*, 2002, v. 14, p. 597–624. DOI: 10.1088/0953-8984/14/18/202

- [11]. W. Hermoso, T.V. Alves, C.C.S. de Oliveira, E.G. Moriya, F.R. Ornellas, P.H.C. Camargo, Triangular metal nanoprisms of Ag, Au, and Cu: Modeling the influence of size, composition, and excitation wavelength on the optical properties, *Chem Phys*, 2013, v. 423, p. 142–150. DOI: 10.1016/j.chemphys.2013.07.008
- [12]. P.R. Selvin, The renaissance of fluorescence resonance energy transfer, *Nature Structural Biology*, 2000, volume 7, pages 730–734. DOI: 10.1038/78948
- [13]. J. Frenkel, On the transformation of light into heat in solids. I. *Phys. Rev.*, 1931, v. 37, p. 17–44. DOI: 10.1103/PhysRev.37.17
- [14]. G. H. Wannier, The structure of electronic excitation levels in insulating crystals. *Phys. Rev.*, 1937, 52, 191–197. DOI: PhysRev.52.191
- [15]. N. F. Mott, Conduction in polar crystals. II. The conduction band and ultra-violet absorption of alkali-halide crystals. *Trans. Faraday Soc.*, 1938, v. 34, p. 500–506. DOI: 10.1039/TF9383400500
- [16]. A. P. Manuel, A. Kirkey, N. Mahdia, K. Shankar, Plexcitonics – fundamental principles and optoelectronic applications, *J. Mater. Chem. C*, 2019,7, 1821-1853. DOI: 10.1039/C8TC05054F
- [17]. P. Törmä, W.L. Barnes, Strong coupling between surface plasmon polaritons and emitters, *Rep. Prog. Phys*, 2015, v. 78, p. 013901. DOI: 10.1088/0034-4885/78/1/013901
- [18]. O. Bitton, S.N. Gupta, G. Haran, Quantum dot plasmonics: from weak to strong coupling, *Nanophotonics*, 2019, vol. 8, no. 4, pp. 559-575. DOI: 10.1515/nanoph-2018-0218
- [19]. J. Sun, Y. Li, H. Hu, W. Chen, D. Zheng, S. Zhang, H. Xu, Strong plasmon–exciton coupling in transition metal dichalcogenides and plasmonic nanostructures, *Nanoscale*, 2021,13, 4408-4419. DOI: 10.1039/D0NR08592H
- [20]. M. Zhang, Y. Tian, X. Chen, Z. Sun, X. Zhu, J. Wu, Observation of ultra-large Rabi splitting in the plasmon-exciton polaritons at room temperature,

- Nanophotonics, 2023, vol. 12, no. 16, pp. 3267-3275. DOI: 10.1515/nanoph-2023-0162
- [21]. J. Qin, et al., Revealing Strong Plasmon-Exciton Coupling between Nanogap Resonators and Two-Dimensional Semiconductors at Ambient Conditions, *Phys. Rev. Lett.*, 2020, 124, 063902. DOI: 10.1103/PhysRevLett.124.063902
- [22]. A. L. Rodarte, A. R. Tao, Plasmon–Exciton Coupling between Metallic Nanoparticles and Dye Monomers, *J. Phys. Chem. C*, 2017, 121, 6, 3496–3502. DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b08905
- [23]. M.A. Ward, T.K Georgiou, Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers*, 2011, 3, 1215-1242. DOI: 10.3390/polym3031215
- [24]. A.M. Akimoto, T. Ueki, R. Yoshida, Thermoresponsive Polymers. In: Kobayashi, S., Müllen, K. (eds) *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2014. DOI: 10.1007/978-3-642-36199-9\_169-1
- [25]. T. Aoyagi, M. Ebara, K. Sakai, Y. Sakurai, T. Okano, Novel bifunctional polymer with reactivity and temperature sensitivity, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2000, 11(1), 101–110. DOI: 10.1163/156856200743526
- [26]. K. Yamamoto, T. Serizawa, Y. Muraoka, M. Akashi, Synthesis and functionalities of poly(N-vinylalkylamide). XII. Synthesis and thermosensitive property of poly(vinylamine) copolymer prepared from poly(N-vinylformamide-co-N-vinylisobutyramide), *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, 2000, 38: 3674-3681. DOI: 10.1002/1099-0518(20001001)38:19<3674::AID-POLA210>3.0.CO;2-N
- [27]. V.R. de la Rosa, Poly(2-oxazoline)s as materials for biomedical applications. *J Mater Sci: Mater Med*, 2014, 25, 1211–1225. DOI: 10.1007/s10856-013-5034-y
- [28]. C-N. Lee, R. Hsu, H. Chen, T-W. Wong, Daylight Photodynamic Therapy: An Update, *Molecules*, 2020, 25(21), 5195. DOI: 10.3390/molecules25215195

- [29]. R Ackroyd, C Kelty, N Brown, M Reed, The history of photodetection and photodynamic therapy, *Photochem Photobiol.*, 2001, 74(5), p. 656-669. DOI: 10.1562/0031-8655(2001)074<0656:thopap>2.0.co;2.
- [30]. D. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer*, 2003, v. 3, 380–387. DOI: 10.1038/nrc1071
- [31]. D. Mitton, R. Ackroyd, A brief overview of photodynamic therapy in Europe, *Photodiagnosis Photodyn Ther.*, 2008, 5(2), p. 103-11. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2008.04.004
- [32]. T. J. Dougherty, G. B. Grindey, R. Fiel, K. R. Weishaupt, D. G. Boyle, Photoradiation therapy. II. Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light, *J Natl Cancer Inst.*, 1975, 55(1), pp. 115-21. DOI: 10.1093/jnci/55.1.115.
- [33]. T.J. Dougherty, J.E. Kaufman, A. Goldfarb, K.R. Weishaupt, D. Boyle, A. Mittleman, Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.*, 1978, 38(8), pp. 2628-35. PMID: 667856.
- [34]. B.W. Henderson, A.C. Miller, Effects of scavengers of reactive oxygen and radical species on cell survival following photodynamic treatment in vitro: comparison to ionizing radiation. *Radiat. Res.*, 1986, 108 (2), pp. 196–205. PMID: 3097749
- [35]. K.R. Weishaupt, C.J. Gomer, T.J. Dougherty, Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photoinactivation of a murine tumor. *Cancer Res.*, 1976, 36 (7 PT 1), 2326–2329. PMID: 1277137.
- [36]. J. Moan, K. Berg, The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen, *Photochem. Photobiol.*, 1991, 53 (4), pp. 549–553. DOI: 10.1111/j.1751-1097.1991.tb03669.x
- [37]. V.G. Schweitzer, PHOTOFRIN-mediated photodynamic therapy for treatment of early stage oral cavity and laryngeal malignancies. *Lasers Surg Med.*, 2001, 29, pp. 305–313. DOI: 10.1002/lsm.1133.

- [38]. Z. Malik, H. Ladan, Y. Nitzan, Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. *J. Photochem. Photobiol. B*, 1992, 14 (3), 262–266. DOI: 10.1016/1011-1344(92)85104-3.
- [39]. M. Wilson, Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2004, 3 (5), pp. 412–418. DOI: 10.1039/b211266c
- [40]. G. Valduga, G. Bertoloni, E. Reddi, G. Jori, Effect of extracellularly generated singlet oxygen on gram-positive and gram-negative bacteria. *J. Photochem. Photobiol.*, 1993, B 21 (1), 81–86. DOI: 10.1016/1011-1344(93)80168-9
- [41]. O. A. Yeshchenko, A. P. Naumenko, N. V. Kutsevol, Daria O. Maskova, I. I. Harahuts, V. A. Chumachenko, A. I. Marinin, Anomalous inverse hysteresis of phase transition in thermosensitive dextran-graft-PNIPAM copolymer/Au nanoparticles hybrid nanosystem, *Journal of Physical Chemistry C.*, 2018, 122, 8003–8010. DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b01111
- [42]. O. A. Yeshchenko, A. P. Naumenko, N. V. Kutsevol, I. I. Harahuts, Laser-driven structural transformations in dextran-graft-PNIPAM copolymer/Au nanoparticles hybrid nanosystem: The role of plasmon heating and attractive optical forces, *RSC Advances*, 2018, 8, 38400–38409. DOI: 10.1039/C8RA07768A
- [43]. S. T. Jones, Z. Walsh-Korb, S. J. Barrow, S. L. Henderson, J. del Barrio, O. A. Scherman, The importance of excess poly(N-isopropylacrylamide) for the aggregation of poly(N-isopropylacrylamide)-coated gold nanoparticles, *ACS Nano*, 2016, 10, 3158-3165. DOI: 10.1021/acsnano.5b04083
- [44]. C. Lemouchi, S. Simonov, L. Zorina, C. Gautier, P. Hudhomme, P. Batail, Amino acid derivatives of perylenediimide and their N–H···O peptide bond dipoles-templated solid state assembly into stacks, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2011, 9, 8096. DOI: 10.1039/C1OB06213A
- [45]. N. Kutsevol, T. Bezugla, M. Bezuglyi, M. Rawiso, Branched dextran-graft-polyacrylamide copolymers as perspective materials for nanotechnology, *Macromol. Symp.*, 2012, 317–318, 82–90. DOI: 10.1002/masy.201100087

- [46]. N. Kutsevol, M. Bezuglyi, T. Bezugla, M. Rawiso, Star-like dextran-graft-(polyacrylamide-co-polyacrylic acid) copolymers, *Macromol. Symp.*, 2014, 335, 12–16. DOI: 10.1002/masy.201200115
- [47]. L. Bulavin, N. Kutsevol, V. Chumachenko, D. Soloviov, A. Kuklin, A. Marynin, SAXS Combined with UV-vis Spectroscopy and QELS: Accurate Characterization of Silver Sols Synthesized in Polymer Matrices, *Nanoscale Res. Lett.*, 2016, 11, 35. DOI: 10.1186/s11671-016-1230-2
- [48]. N. Kutsevol, V. Chumachenko, M. Rawiso, A. Shyichuk, Green synthesis of silver nanoparticles using dextran-graft-polyacrylamide as template, *Micro Nano Lett.*, 2016, 11, 256–259. DOI: 10.1049/mnl.2015.0547
- [49]. O. A. Yeshchenko, N. V. Kutsevol, A. V. Tomchuk, P. S. Khort, P. A. Virych, V. A. Chumachenko, Y. I. Kuziv, A. P. Naumenko, A. I. Marinin, Plasmonic enhancement of the antibacterial photodynamic efficiency of a zinc tetraphenylporphyrin photosensitizer/dextran graft polyacrylamide anionic copolymer/Au nanoparticles hybrid nanosystem, *RSC Adv.*, 2022, 12, 11-23. DOI: 10.1039/D1RA08198E
- [50]. O. A. Yeshchenko, N. V. Kutsevol, A. V. Tomchuk, P. S. Khort, P. A. Virych, V. A. Chumachenko, Y. I. Kuziv, A. I. Marinin, L. Cheng, G. Nie, Thermoresponsive Zinc TetraPhenylPorphyrin Photosensitizer/Dextran Graft Poly(N-IsoPropylAcrylAmide) Copolymer/Au Nanoparticles Hybrid Nanosystem: Potential for Photodynamic Therapy Applications, *Nanomaterials*, 2022, 12, 2655. DOI: 10.3390/nano12152655
- [51]. O. A. Yeshchenko, N. V. Kutsevol, A. V. Tomchuk, P. S. Khort, P. A. Virych, V. A. Chumachenko, Y. I. Kuziv, A. P. Naumenko, A. I. Marinin, Zinc TetraPhenylPorphyrin / Dextran-Graft-PolyAcrylAmide / Gold Nanoparticles Hybrid Nanosystem for Photodynamic Therapy: Plasmonic Enhancement Effect, *Nanomed. Res. J.*, 2022, 7, 173-188. DOI: 10.22034/nmrj.2022.02.007
- [52]. V. Chumachenko, N. Kutsevol, Yu. Harahuts, M. Rawiso, A. Marinin, L. Bulavin, Star-like dextran-graft-pnipam copolymers. Effect of internal

- molecular structure on the phase transition, *J. Mol. Liq.*, 2017, 235, 77–82. DOI: 10.1016/j.molliq.2017.02.098
- [53]. N.V. Kutsevol, V.A. Chumachenko, M. Rawiso et al. Star-like dextran-polyacrylamide polymers: Prospects of use in nanotechnologies. *J Struct Chem*, 2015, 56, 959–966. DOI:10.1134/S0022476615050200
- [54]. O. Kapush, S.I. Budzulyak, D.V. Korbutyak, N.D. Vakhnyak, S.D. Boruk, V.M. Dzhagan, A.I. Yemets, M.Ya. Valakh, Influence of the dispersion medium on the properties of CdTe micro- and nanocrystals in a colloidal solution. *Func Mater*, 2019, 26:27–34, DOI: 10.15407/fm26.01.27
- [55]. X. Yuan, Z. Liu, Y. Wang, Y. Xu, W. Zhang and T. Mu, The non-negative truncated singular value decomposition for adaptive sampling of particle size distribution in dynamic light scattering inversion, *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*, 2020, 246, 106917. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2020.106917.
- [56]. D. Yu, Y. Zha, Z. Zhong, Y. Ruan, Z. Li, L. Sun, S. Hou, Improved detection of reactive oxygen species by DCFH-DA: New insight into self-amplification of fluorescence signal by light irradiation, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, Volume 339, p. 129878. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129878
- [57]. C. de Mello Donega, R. Koole, Size dependence of the spontaneous emission rate and absorption cross section of CdSe and CdTe quantum dots, *J Phys Chem C*, 2009, 113, 6511–6520. DOI: 10.1021/jp811329r
- [58]. E. Groeneveld, C. Delerue, G. Allan, Y.M. Niquet, C. de Mello Donega, Size dependence of the exciton transitions in colloidal CdTe quantum dots, *J Phys Chem C*, 2012, 116, 23160–23167. DOI: 10.1021/jp3080942
- [59]. O. Kapush, L. Trishchuk, V. Tomashyk, Z. Tomashik, Effect of thioglycolic acid on the stability and photoluminescence properties of colloidal solutions of CdTe nanocrystals, *Inorganic Materials*, 2014, 50. DOI: 10.1134/S0020168514010105.
- [60]. F. Mezrag, N. Bouarissa, Pseudopotential Study of CdTe Quantum Dots: Electronic and Optical Properties. *Materials Research*, 2019, 22. DOI: 10.1590/1980-5373-mr-2017-1146.

- [61]. L. Perrin, P. Hudhomme, Synthesis, electrochemical and optical absorption properties of new perylene-3,4:9,10-bis(dicarboximide) and perylene-3,4:9,10-bis(benzimidazole) derivatives, *European Journal of Organic Chemistry*, 2011, issue 28, p. 5427–5440. DOI: 10.1002/ejoc.201100513
- [62]. 40. D. Marsh, L. Mink, Microscale synthesis and electronic absorption spectroscopy of tetraphenylporphyrin H<sub>2</sub>(TPP) and metalloporphyrins ZnII(TPP) and NiII(TPP). *Journal of Chemical Education*, 1996, 73, 1181. DOI: 10.1021/ed073p1188
- [63]. 41. J-P. Strachan, S. Gentemann, J. Seth, W. A. Kalsbeck, J. S. Lindsey, D. Holten, D. F. Bocian, Effects of orbital ordering on electronic communication in multiporphyrin arrays. *Journal of the American Chemical Society*, 1997. 119, 11191–11201. DOI: 10.1021/ja971678q
- [64]. 42. A. Harriman, Luminescence of porphyrins and metalloporphyrins. Part 1 – Zinc (II) nickel (II) and manganese (II) porphyrins, *Journal of the Chemical Society Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 1980, 6, 1978–1985. DOI: 10.1039/F19807601978
- [65]. 43. K. A. Nguyen, P. N. Day, R. Pachter, S. Tretiak, V. Chernyak, S. Mukamel, Analysis of absorption spectra of zinc porphyrin, zinc meso-tetraphenylporphyrin and halogenated derivatives. *Journal of Physical Chemistry A*, 2002, 106, 10285–10293. DOI: 10.1021/jp020053y
- [66]. 47. O. A. Yeshchenko, P. S. Khort, N. V. Kutsevol, V. M. Prokopets, O. Kapush, V. Dzhagan, Temperature driven plasmon-exciton coupling in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM/Au nanoparticle/CdTe quantum dots hybrid nanosystem. *Plasmonics*, 2021, 16, 1137–1150. DOI: 10.1007/s11468-021-01378-w
- [67]. 48. E-M. Roller, C. Argyropoulos, A. Högele, T. Liedl, M. Pilo-Pais, Plasmon-exciton coupling using DNA templates, *Nano Letters*, 2016, 16, 5962–5966. DOI: 10.1021/acs.nanolett.6b03015

- [68]. 50. Q. Su, C. Jiang, D. Gou, Y. Long, Surface plasmon-assisted fluorescence enhancing and quenching: from theory to application, *ACS Applied Bio Materials*. 2021; 4: 4684–4705. DOI: 10.1021/acsabm.1c00320
- [69]. 51. I. Medintz, N. Hildebrandt, FRET - Förster resonance energy transfer: From theory to applications. Wiley, 2013.
- [70]. Y. Zhang, K. Aslan, M. J. R. Previte, C. D. Geddes, Metal-enhanced Singlet Oxygen Generation: A Consequence of Plasmon Enhanced Triplet Yields, *Journal of Fluorescence*, 2007, 17, 345–349. DOI: 10.1007/s10895-007-0196-y
- [71]. G.V. Vimbela, S.M. Ngo, C. Frazee, L. Yang, D.A. Stout, Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12, 3941-3965. DOI: 10.2147/IJN.S134526
- [72]. Y. Cui, Y. Zhao, Y. Tian, W. Zhang, X. Lü, X. Jiang, The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on Escherichia Coli. *Biomaterials*, 2012, 33, 2327–2333. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.057
- [73]. J. Fyrestam, Porphyrins and heme in microorganisms – porphyrin content and its relation to phototherapy and antimicrobial treatments in vivo and in vitro. Stockholm University, 2017.
- [74]. S. Brown, J. P. Santa Maria, S. Walker, Wall teichoic acids of gram-positive bacteria, *Annu. Rev. Microbiol.*, 2013, 67, 313–336. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155620
- [75]. B. Gottenbos, D. W. Grijpma, H. C. Van Der Mei, J. Feijen and H. J. Busscher, Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria, *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001, 48, 7–13. DOI: 10.1093/jac/48.1.7
- [76]. B. R. Nayak, R. P. Singh, Synthesis and characterization of grafted hydroxypropyl guar gum by ceric ion induced initiation, *Eur. Polym. J.*, 2001, 37, 1655. DOI: 10.1016/S0014-3057(01)00035-0
- [77]. F. Farjadian, S. Rezaeifard, M. Naeimi, S. Ghasemi, S. Mohammadi-Samani, M. E. Welland, L. Tayebi, Temperature and pH-responsive nano-hydrogel

- drug delivery system based on lysine-modified poly (vinylcaprolactam), *Int. J. Nanomed.*, 2019, 14, 6901–6915. DOI: 10.2147/IJN.S214467
- [78]. J. Elms, P. N. Beckett, P. Griffin, A. D. Curran, Mechanisms of isocyanate sensitisation. An in vitro approach. *Toxicol. In Vitro*, 2001, 15, 631. DOI: 10.1016/s0887-2333(01)00078-9
- [79]. M. Watson, D. M. Holman, M. Maguire-Eisen, Ultraviolet Radiation Exposure and Its Impact on Skin Cancer Risk, *Semin. Oncol. Nurs.*, 2016, 32, 241–254. DOI: 10.1016/j.soncn.2016.05.005
- [80]. K. Ratnayake, J. L. Payton, M. E. Meger, N. H. Godage, E. Gionfriddo, A. Karunaratne, Blue light-triggered photochemistry and cytotoxicity of retinal. *Cell. Signal.*, 2020, 69, 109547. DOI: 10.1016/j.cellsig.2020.109547
- [81]. A. C. Wall, J. P. Gius, D. J. Buglewicz, A. B. Banks, T. A. Kato, Oxidative stress and endoreduplication induced by blue light exposure to CHO cells, *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*, 2019, 841, 31–35. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2019.05.003
- [82]. J. X. Tao, W. C. Zhou, X. G. Zhu, Mitochondria as Potential Targets and Initiators of the Blue Light Hazard to the Retina, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, 2019, 6435364. DOI: 10.1155/2019/6435364
- [83]. M. De Vetta, O. Baig, D. Steen, J.J. Nogueira, L. González, Assessing configurational sampling in the quantum mechanics/molecular mechanics calculation of temoporfin absorption spectrum and triplet density of states. *Molecules*, 2018, 23, 2932. DOI: 10.3390/molecules23112932
- [84]. B. Aslanoglu, I. Yakavets, V. Zorin, H-P. Lassalle, F. Ingrosso, A. Monari, S. Catak, Optical properties of photodynamic therapy drugs in different environments: The paradigmatic case of temoporfin. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2020, 22, 16956–16964 DOI: 10.1039/D0CP02055A
- [85]. E. J. Mattioli, L. Ulfo et al, Carrying Temoporfin with Human Serum Albumin: A New Perspective for Photodynamic Application in Head and Neck Cancer, *Biomolecules*, 2023, 13, 68. DOI: 10.3390/biom13010068

- [86]. P. Gierlich, S. G. Mucha, E. Robbins, L. C. Gomes-da-Silva, K. Matczyszyn, M. O. Senge, One-Photon and Two-Photon Photophysical Properties of Tetrafunctionalized 5,10,15,20-tetrakis(m-hydroxyphenyl)chlorin (Temoporfin) Derivatives as Potential Two-Photon-Induced Photodynamic Therapy Agents, *ChemPhotoChem*, 2021, 6, e20210024. DOI: 10.1002/cptc.202100249
- [87]. Zhou, Z.; Song, J.; Nie, L.; Chen, X. Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy. *Chem. Soc. Rev.* 2016, 45, 6597–6626.
- [88]. V. Chumachenko, N. Kutsevol, I. Harahuts, D. Soloviov, L. Bulavin, O. Yeshchenko, A. Naumenko, O. Nadтока, A. Marinin, Temperature Driven Transformation in Dextran-Graft-PNIPAM/Embedded Silver Nanoparticle Hybrid System, *Int. J. Polym. Sci.*, 2019, 2019, 3765614. DOI: 10.1155/2019/3765614
- [89]. O.A. Yeshchenko, A.O. Bartenev, A.P. Naumneko, N.V. Kutsevol, I.I. Harahuts, A.I. Marinin, Laser-driven aggregation in dextran-graft-PNIPAM/silver nanoparticles hybrid nanosystem: Plasmonic effects. *Ukr. J. Phys.* 2020, 65, 254–267. DOI: 10.15407/ujpe65.3.254
- [90]. S. Ashraf, H-K. Park, H. Park, S-H. Lee, Snapshot of phase transition in thermoresponsive hydrogel PNIPAM: Role in drug delivery and tissue engineering, *Macromol. Res.*, 2016, 24, 297–304. DOI: 10.1007/s13233-016-4052-2
- [91]. B. Garcia-Pinel, A. Ortega-Rodríguez, et al, Magnetically active pNIPAM nanosystems as temperature-sensitive biocompatible structures for controlled drug delivery. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.*, 2020, 48, 1022–1035. DOI: 10.1080/21691401.2020.1773488
- [92]. M. S. Verma, S-C. Wei, J. L. Rogowski, J. M. Tsuji, P. Z. Chen, C-W. Lin, L. Jones, F. X. Gu, Interactions between bacterial surface and nanoparticles govern the performance of “chemical nose” biosensors. *Biosens. Bioelectron.*, 2016, 15, 115–125. DOI: 10.1016/j.bios.2016.04.024

- [93]. B. Gold, R. Smith, et al, Novel cephalosporins selectively active on nonreplicating mycobacterium tuberculosis. *J. Med. Chem.* 2016, 59, 6027–6044. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01833
- [94]. S. Kavitha, A. Harikrishnan, K. Jeevaratnam, Characterization and evaluation of antibacterial efficacy of a novel antibiotic-type compound from a probiotic strain *Lactobacillus plantarum* KJB23 against food-borne pathogens, *LWT*, 2020, 118, 108759. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.108759
- [95]. O. A. Yeshchenko, N. V. Kutsevol, A. V. Tomchuk, P. S. Khort, Y. I. Kuziv, P. Hudhomme, O. M. Krupka, Dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / perylenediimide hybrid system as thermosensitive optical switches and fluorescent labels for potential use in nanophotonics and biomedical applications, *Optical Materials*, 2022, 131, 112753. DOI: 10.1016/j.optmat.2022.112753
- [96]. O. Yeshchenko, N. Kutsevol, P. Virych, P. Khort, P. Virych, V. Chumachenko, V. Cekhunc, Anti-cancer activity of zinc-tetraphenylporphyrin photosensitizer/dextran-graft-polyacrylamide copolymer/Au(Ag) nanoparticle nanohybrids, *RSC Adv.*, 2024,14, 5045-5054. DOI: 10.1039/D3RA07825F

## ДОДАТОК 1

### Список опублікованих праць за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

[1] Yeshchenko O.A., Khort P.S., Kutsevol N.V., Prokopets V.M., Kapush O., Dzhan V. Temperature Driven Plasmon-Exciton Coupling in Thermoresponsive Dextran-Graft-PNIPAM/Au Nanoparticle/CdTe Quantum Dots Hybrid Nanosystem. *Plasmonics*, 2021, 16 (4), pp. 1137 – 1150. DOI: 10.1007/s11468-021-01378-w (Scimago: Q3).

[2] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Naumenko A.P., Marinin A.I. Plasmonic enhancement of the antibacterial photodynamic efficiency of a zinc tetraphenylporphyrin photosensitizer/dextran graft polyacrylamide anionic copolymer/Au nanoparticles hybrid nanosystem. *RSC Advances*, 2022, 12 (1), pp. 11 – 23. DOI: 10.1039/d1ra08198e (Scimago: Q1).

[3] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Naumenko A.P., Marinin A.I. Zinc TetraPhenylPorphyrin / Dextran-Graft-PolyAcrylAmide / Gold Nanoparticles Hybrid Nanosystem for Photodynamic Therapy: Plasmonic Enhancement Effect. *Nanomedicine Research Journal*, 2022, 7 (2), pp. 173 – 188. DOI: 10.22034/nmrj.2022.02.007 (Scimago: Q3).

[4] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Marinin A.I., Cheng L., Nie G. Thermoresponsive Zinc TetraPhenylPorphyrin Photosensitizer/Dextran Graft Poly(N-IsoPropylAcrylAmide) Copolymer/Au Nanoparticles Hybrid Nanosystem: Potential for Photodynamic Therapy Applications. *Nanomaterials*, 2022, 12 (15), art. no. 2655. DOI: 10.3390/nano12152655 (Scimago: Q1).

[5] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Kuziv Y.I., Hudhomme P., Krupka O.M. Dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles /

perylene diimide hybrid system as thermosensitive optical switches and fluorescent labels for potential use in nanophotonics and biomedical applications. *Optical Materials*, 2022, 131, art. no. 112753. DOI: 10.1016/j.optmat.2022.112753 (Scimago: Q1).

[6] Chumachenko V., Virych Pavlo, Nie G., Virych Petro, Khort P., Tkachenko A., Prokopiuk V., Lukianova N., Zadvornyi T., Rawiso M., Ding L., Kutsevol N. Combined dextran-graft-polyacrylamide/zinc oxide nanocarrier for effective anticancer therapy in vitro. *International Journal of Nanomedicine*, 2023, 18, pp. 4821 – 4838. DOI: 10.2147/IJN.S416046 (Scimago: Q1).

[7] Yeshchenko O., Kutsevol N., Virych P., Khort P., Virych P., Chumachenko V., Cekhun V. Anti-cancer activity of zinc-tetraphenylporphyrin photosensitizer / dextran-graft-polyacrylamide copolymer / Au(Ag) nanoparticle nanohybrids. *RSC Advances*, 2024, 14 (8), pp. 5045 – 5054. DOI: 10.1039/d3ra07825f (Scimago: Q1).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

[8] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Yu.I., Naumenko A.P., Marinin A.I., “Study of zinc tetraphenylporphyrin / dextran graft polyacrylamide copolymer / Au nanoparticles nanosystem applicability for photodynamic therapy”, 7th International Conference NBP-2021 “Nanobiophysics: Fundamentals and Applied Aspects” (Kharkiv, Ukraine, October 4 – 8, 2021).

[9] Yeshchenko O., Khort P., Kutsevol N., Kapush O., Dzhagan V., “Plexcitons in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots nanosystem: temperature effects”, XXV Galyna Puchkovska International School-Seminar “Spectroscopy of Molecules and Crystals” (Kyiv, Ukraine, September 21–24, 2021).

[10] Yeshchenko O., Khort P., Kutsevol N., Kapush O., Dzhagan V., “Plexcitons in Thermoresponsive Dextran-Graft-PNIPAM/Au Nanoparticles/CdTe Quantum Dots Nanosystem: Temperature Effects”, 2021 IEEE 11th International Conference

“Nanomaterials: Applications & Properties” (NAP-2021) (Odesa, Ukraine, September 5-11, 2021).

[11] Yeshchenko O.A., Khort P.S., Kutsevol N.V., Kapush O., Dzhagan V., “Temperature driven plasmon-exciton coupling in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots hybrid nanosystem”, 9th International Conference “Nanotechnology and nanomaterials” NANO-2021 (Lviv, Ukraine, August 25 – 27, 2021).

[12] Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Tomchuk A.V., Khort P.S., Virych P.A., Chumachenko V.A., Kuziv Y.I., Naumenko A.P., Marinin A.I., “Zinc tetraphenylporphyrin / dextran-graft-polyacrylamide / gold nanoparticles nanosystem for photodynamic therapy: optical properties and bactericidal activity”, 7th International Caucasian Symposium on Polymers & Advanced Materials (Tbilisi, Georgia, July 27 – 30, 2021).

[13] Yeshchenko O.A., Khort P.S., Kutsevol N.V., Kapush O., Dzhagan V., “Temperature driven plasmon-exciton coupling in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots hybrid nanosystems”, 7th International Caucasian Symposium on Polymers & Advanced Materials (Tbilisi, Georgia, July 27 – 30, 2021).

[14] Yeshchenko O., Khort P., Kutsevol N., Kapush O., Dzhagan V., “Plexcitons in thermoresponsive dextran-graft-PNIPAM / Au nanoparticles / CdTe quantum dots nanosystem: temperature effects”, 11th Intern. Conf. on Metamaterials, Photonic Crystals and Plasmonics (Warsaw, Poland, July 20 – 23, 2021).

[15] O. Yeshchenko, N. Kutsevol, P. Khort, Pavlo Virych, V. Chumachenko, Petro Virych, Anti-cancer activity of zinc-tetraphenylporphyrin photosensitizer / dextran-graft-polyacrylamide copolymer / Au(Ag) nanoparticles nanohybrids, in 11th International Conference "Nanotechnology and nanomaterials" NANO-2023 (Bukovel, Ukraine, August 16 – 19, 2023).