

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Губенко Катерини Олександрівни

«Оптична спектроскопія перенесення енергії електронного збудження в гібридних орґано/неорґанічних комплексах на основі наночастинок ReVO_4 ($\text{Re} = \text{Gd}, \text{Y}, \text{Eu}$) і CaWO_4 »,

яку представлено на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.05 – оптика, лазерна фізика.

1. Актуальність та практичне значення роботи.

Фотодинамічна терапія (ФДТ) є методом лікування раку, який успішно застосовується в клінічній практиці багатьох країн. Він ґрунтується на введенні в хворий організм фотосенсибілізаторів (ФС) – молекул, які переважно накопичуються в пухлині і, будучи самі нетоксичними, при опроміненні їх видимим чи ближнім інфрачервоним світлом в області поглинання цих молекул генерують активні форми кисню (вільні радикали чи синглетний кисень), які знищують пухлину. Порівняно з традиційними методами лікування раку (хіміо- та радіотерапією), цей метод характеризується високою специфічністю до пухлини і низьким рівнем пошкодження здорових тканин, що дає змогу неодноразово повторювати процедуру, не завдаючи організму значної шкоди. Проте, поряд із зазначеними перевагами, такий метод має й деякі недоліки, найголовніший з яких – мала глибина проникнення збуджувального світла в тканину (до 1 см навіть для ближнього інфрачервоного світла в так званому вікні прозорості біологічної тканини 700-1000 нм). Через це ФДТ використовують лише для тих видів раку, які уражують приповерхневі тканини.

Щоб подолати це обмеження, в 2006 році був запропонований підхід рентгенівської фотодинамічної терапії (РФДТ), який передбачає збудження сенсibilізатора рентгенівськими променями, здатними проникати глибоко в людський організм. Було запропоновано також і загальну схему будови сенсibilізатора, який мав використовуватись при такому підході – він мав складатися зі сцинтилятора та ФС, поєднаних в одну систему. Передбачалося, що сцинтилятор мав поглинати рентгенівські кванти та перетворювати їх на електронні збудження, які могли б передаватися на ФС за механізмом безвипромінювального перенесення енергії електронного збудження. Ефективність такого сенсibilізатора залежить від ряду факторів, як-от ефективність поглинання рентгенівських променів сцинтилятором, ефективність перетворення рентгенівського кванту на електронні збудження, ефективність перенесення збудження на ФС, та ефективність утворення активних форм кисню збудженим ФС. Різними групами був пророблений значний обсяг роботи з розробки таких сенсibilізаторів, в яких

використовувалися різні матеріали в якості сцинтиляторів (зазвичай наночастинки), різні молекули-ФС та різні способи їх поєднання в одну систему. Проте, ефективність РФДТ з використанням розроблених систем-сенсорибілізаторів досі не перевищує ефективності звичайної ФДТ. Через це пошук сенсорибілізаторів для РФДТ має важливе практичне значення. В той же час, для того, щоб такий пошук був раціональним і спрямованим, необхідно також досліджувати процеси міжмолекулярної взаємодії в системах сцинтилятор-ФС, такі як взаємодія молекул ФС з наночастинкою-сцинтилятором, а також з речовинами (полімерами, поверхнево-активними речовинами тощо), які забезпечують їх поєднання в систему, та агрегацію молекул ФС в цих речовинах, в розчині та на поверхні наночастинки-сцинтилятора. Крім того, треба досліджувати електронні процеси в системах сцинтилятор-ФС, а саме механізми та ефективність таких процесів, як перетворення рентгенівського кванту в електронні збудження, перенесення енергії збудження зі сцинтилятора на ФС, генерацію активних форм кисню.

Таким чином, поставлене в розглянутому дослідженні завдання є, безумовно, важливим і актуальним, а його успішне виконання становитиме незаперечний інтерес як з наукової, так і з практичної точок зору.

2. Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій.

В дисертації досліджена взаємодія молекул ФС метиленового блакитного (МБ) та акридинового помаранчевого (АП) між собою та з наночастинками, процеси перенесення енергії електронного збудження з наночастинок-сцинтиляторів на згадані ФС, та особливості генерації активних форм кисню системами сцинтилятор-ФС. Було одержано ряд важливих і цікавих з наукової та практичної точки зору результатів, які дозволяють зробити низку обґрунтованих висновків. Насамперед, методи скануючої електронної мікроскопії, пропускну електронної мікроскопії, рентгеноструктурного аналізу та динамічного розсіяння світла підтверджували отримання наночастинок та наноконтейнерів, та давали інформацію про їх властивості. Далі, висновок про агрегацію молекул ФС у приповерхневому шарі наночастинок ортованадатів, а також про ексимерну природу флуоресценції агрегатів АП утворених на поверхні наночастинок, зроблено на основі вимірювання спектрів поглинання, флуоресценції та збудження флуоресценції, а також кривих загасання флуоресценції та розділених в часі спектрів флуоресценції ФС за різних концентрацій у водних розчинах та в присутності наночастинок. Висновки про перенесення енергії електронного збудження з наночастинок сцинтиляторів на ФС у водних розчинах та в пористих мікроконтейнерах ґрунтуються на розрахунках перекривання спектрів поглинання ФС і випромінювання сцинтиляторів,

вимірюванні спектрів випромінювання та кривих загасання люмінесценції сцинтиляторів та аналізі впливу на них певних концентрацій ФС, а також на вимірюванні спектрів випромінювання та кривих загасання люмінесценції ФС, отриманих при збудженні наночастинок сцинтилятора. Продемонстроване згаданими методами перенесення енергії збудження зі сцинтилятора на ФС підтверджувало висновки про утворення наночастинами сцинтилятора та молекулами ФС єдиної системи. Висновки про генерацію активних форм кисню системами сцинтилятор-ФС було підтверджено рядом методів. Зокрема, загальну генерацію активних форм кисню спостерігали за впливом опромінення розчинів систем сцинтилятор-ФС на спектри поглинання дієнових кон'югатів, утворених при дії активних форм кисню на введенні в розчин ліпосоми. Висновок про генерацію гідроксил радикалів, а також про їх знищення у випадку рентгенівського опромінення розчину систем сцинтилятор-ФС, було зроблено на основі аналізу впливу опромінення розчинів на спектр випромінювання введеного в розчин кумарину. Наявність генерації синглетного кисню визначали за спектрами люмінесценції введеного в розчин індикатора ADPA.

Таким чином я вважаю, що використані автором експериментальні методи, за допомогою яких сформульовані висновки дисертації, є абсолютно коректними та обґрунтованими.

3. Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.

Основні результати дисертації достатньо повно викладені в 6 статтях в фахових журналах, чотири з яких – у міжнародних виданнях *Journal of Luminescence*, *Journal of Fluorescence*, *Nanoscale Research Letters* та *Microporous and Mesoporous Materials*, і дві – в вітчизняному журналі *Functional Materials* (всі згадані журнали входять до бази даних Scopus), в одному патенті України, а також в 6 тезах доповідей на міжнародних та вітчизняних конференціях та школах-семінарах.

4. Достовірність та новизна отриманих результатів.

Достовірність отриманих в дисертації результатів забезпечується тим, що авторка використовувала надійні та апробовані методи експериментальних досліджень та розрахунків. Крім того, авторкою була детально опрацьована наявна на момент написання дисертації література з досліджуваного питання, і таким чином вихідні положення досліджень та їх план формулювалися, спираючись на сучасний рівень наукового знання в даній галузі.

Отримані в роботі результати дають відповідь на запитання про оптимальний склад ряду наносистем, перспективних для РФДТ, які складаються з наночастинок сцинтиляторів (ортованадатів та вольфрамату

кальцію) та фотосенсибілізаторів МБ та АП і поєднуються з допомогою оболонки з поверхнево-активної речовини, пористої оболонки SiO_2 чи наноконтейнерів з пористого карбонату кальцію, а також про фотофізичні властивості цих наносистем та особливості генерації з їх допомогою активних форм кисню. Ці результати будуть надзвичайно корисними як для подальшої розробки сенсориалізаторів для РФДТ, так і для розробок наноматеріалів для інших завдань, які потребують перетворення енергії рентгенівських квантів у енергію електронних збуджень видимого діапазону з їх подальшим оптичним чи хімічним застосуванням.

В роботі отримано такі нові результати:

1. Встановлено утворення наносистем, що складаються з (1) наночастинок ортованадату $\text{Gd}_{0.8}\text{Y}_{0.2}\text{VO}_4$, вкритого шаром цитрату натрію, та молекул АП, (2) наночастинок ортованадату $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, вкритого шаром ЕДТА, та молекул МБ, (3) наночастинок CaWO_4 , вкритого шаром пористого SiO_2 , та молекул АП, та (4) наночастинок ортованадату $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ та молекул МБ введених в пористий наноконтейнер CaCO_3 .

2. Встановлено утворення агрегатів АП та МБ в приповерхневому шарі стабілізатора навколо наночастинок відповідних ортованадатів, та встановлено концентрації ФС, за яких ця агрегація відбувається.

3. Виявлено люмінесценцію агрегатів АП, утворених в приповерхневому шарі стабілізатора навколо наночастинок $\text{Gd}_{0.8}\text{Y}_{0.2}\text{VO}_4$, та встановлено її ексимерну природу.

4. Встановлено наявність перенесення енергії електронного збудження з наночастинок сцинтилятора на ФС в отриманих наносистемах, оцінено ефективність перенесення енергії. Встановлено оптимальний (з точки зору максимально ефективного перенесення енергії збудження) склад наносистем. Встановлено, що найефективнішими є системи, що складаються з наночастинок ортованадату $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ та молекул МБ (як в водному розчині, поєднані з допомогою стабілізатора, так і введені в пористі наноконтейнери CaCO_3).

5. Показано, що наносистеми, які складаються з наночастинок ортованадату $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ та молекул МБ, генерують при опроміненні активні форми кисню, зокрема гідроксил радикали та синглетний кисень. При цьому встановлено, що наявність МБ підвищує, порівняно з наночастинками без ФС, генерацію синглетного кисню, але зменшує генерацію гідроксил радикалів.

6. Показано, що наночастинки ортованадату $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ можуть нейтралізувати гідроксил радикали, утворені з допомогою рентгенівського опромінення.

5. Наукове та практичне значення результатів дисертації.

В представленій дисертаційній роботі досліджено утворення наносистем у складі молекул фотосенсибілізаторів МБ чи АП та наночастинок ортованадатів чи вольфрамату кальцію з допомогою поверхнево-активних речовин-стабілізаторів, пористого шару SiO_2 навколо наночастинок, або наноконтейнера карбонату кальцію. Вивчені процеси перенесення енергії електронного збудження з наночастинок-сцинтиляторів на згадані ФС, а також особливості генерації активних форм кисню (зокрема, синглетного кисню та гідроксил радикалів) системами сцинтилятор-ФС. Було отримано ряд нових наносистем, перспективних для РФДТ, які складаються з (1) наночастинок $\text{Gd}_{0.8}\text{Y}_{0.2}\text{VO}_4$, вкритого шаром цитрату натрію, та молекул АП, (2) наночастинок $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, вкритого шаром ЕДТА, та молекул МБ, (3) наночастинок CaWO_4 , вкритого шаром пористого SiO_2 , та молекул АП, та (4) наночастинок $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ та молекул МБ, введених в пористий наноконтейнер CaCO_3 . Було виявлено і досліджено агрегацію МБ та АП в приповерхневих шарах наночастинок-сцинтиляторів, утворених поверхнево-активними речовинами-стабілізаторами. Було встановлено наявність перенесення енергії електронного збудження зі сцинтилятора на ФС в одержаних наносистемах. Було встановлено оптимальний склад таких наносистем як з точки зору уникнення утворення агрегатів молекул ФС, так і з точки зору максимальної ефективності перенесення енергії збудження зі сцинтилятора на ФС. Нарешті, було встановлено генерацію активних форм кисню при опроміненні наносистем $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ -МБ та виявлено особливості впливу наявності МБ на генерацію гідроксил радикалів та синглетного кисню.

Одержані результати та зроблені з них висновки значно розширюють наші уявлення про особливості процесів міжмолекулярної взаємодії та перенесення енергії електронного збудження, що відбуваються в системах наночастинок-сцинтилятори / фотосенсибілізатори / поверхнево-активні речовини чи пористі покриття та наноконтейнери, та про генерацію різних видів активних форм кисню при опроміненні цих наносистем видимим та рентгенівським випромінюванням. Це нове знання буде дуже корисним при подальшій розробці сенсибілізаторів для РФДТ, а також для можливих розробок інших наноматеріалів, які потребують перетворення енергії рентгенівських квантів у енергію електронних збуджень видимого діапазону з подальшим оптичним чи хімічним застосуванням цих збуджень.

6. Зауваження до роботи

В той же час, представлена робота не вільна від деяких недоліків, а саме:

1. У твердженні “*k* - фактор, що описує взаємну орієнтацію в просторі дипольних моментів переходів донора й акцептора = 2/3” (стор. 30), замість *k* мало очевидно стояти k^2 , яке власне і рівне 2/3 для хаотично орієнтованих дипольних моментів переходу донора і акцептора.

2. Запис реакції (1.8) на стор. 32 є не зовсім вдалим (хоч, очевидно, вірно передає її основну суть), оскільки відповідні кількості відповідних елементів в лівій і правій частинах не рівні.

3. Мабуть, потребує додаткового пояснення результат зміни гідродинамічного діаметру наночастинок при додаванні барвників (стор. 74), який зростає в одному випадку з 56,4 нм до 90 нм, а в другому з 31,2 нм до 58,5 нм, тобто на 34 і 27 нм відповідно. Враховуючи, що розмір молекули барвника складає порядку 1 нм в довжину і молекули, як можна зрозуміти, вбудовуються у вже існуючу оболонку зі стабілізатора, чи можна пояснити збільшення радіусу частинки на 17 нм та 13 нм відповідно приєднанням молекул? Чи може за рахунок приєднання молекул барвників відбуватися асоціація кількох наночастинок? Чи, може, має місце ефект методу динамічного розсіяння світла при зміні характеру поверхні наночастинок внаслідок приєднання барвників?

4. У твердженні “Тобто концентрація молекул ФС має принципове значення, і у випадку комплексів $Gd_{0,9}Eu_{0,1}VO_4$ -МБ не має перевищувати 1×10^{-5} моль/л.” (стор. 76-77), треба думати, знайдена концентрація МБ визначена для певної концентрації наночастинок і залежить від неї?

5. У твердженні “Відомо, що барвник АП в залежності від значення рН, може бути протонований в кінцевій аміногрупі ($AONH^+$) і/або внутрішньоциклічній аміногрупі (ABH^+) (рис.3.1б)”, має місце, очевидно, невірне посилання на рисунок.

6. В таблиці 3.1 (стор. 84) замість АП вжито АО (що не викликає принципових заперечень, але порушує однозначність позначень), крім того, дублюється стрічка для 10^{-6} М АП при рН = 2.

7. Не зрозуміло також, чому в таблиці 3.1 (стор. 84), навіть при рН = 12, відсутні знадки про повністю депротоновані форми АП. Вони не існують, чи вони не люмінесцентні?

8. В тексті наведений коментар до Рис. 3.12: “Зрізи 3D-графіку вздовж осі часу або осі довжин хвиль дають спектр люмінесценції в заданий час, або загасання люмінесценції на заданій довжині хвилі, відповідно.” (стор. 85). Проте, оскільки спектри на Рис. 3.12, як можна зрозуміти, нормовані на 1. Якщо це справді так, то побачити криві загасання важко.

9. Як можна зрозуміти, цифри 32-36% у твердженні “У той же час, при підвищеній концентрації МБ спостерігалось деяке збільшення часткового внеску коротких компонентів до 32-36%, що підтверджує сильне загасання іонів Eu^{3+} , розташованих поблизу поверхні НЧ” спираються на значення f_1 з Таблиці 4.1. Проте, якщо це справді так, то слід зауважити, що f – це амплітуда, а не частковий внесок в інтенсивність (який становитиме $f_1 \times \tau_1 / \sum f_i \times \tau_i$). Крім того, не зрозуміло, чому збільшення внеску коротких компонентів (яким відповідають якраз приповерхневі іони європію) означає сильніше гасіння саме цих приповерхневих іонів?

10. Щодо спостереження “сенсibiliзовано акцепторної люмінесценції з максимумом при 665 нм” для барвника DiDC₁ (стор. 94), чи враховувалося можливе (хай і невелике, але напевне ненульове) поглинання самого барвника на довжині хвилі збудження?

11. У виразі “іони Eu^{3+} , розташовані поблизу поверхні, більш схильні до процесу нерадіаційного розпаду” (стор. 105) мався на увазі, очевидно, збуджений стан іонів, а не самі іони?

12. Є ряд помилок, невдалих термінів та просто опечаток, таких як: “виборчого” замість “вибіркового” (стор. 17), “ферсторовського” замість “ферстерівського” (стор. 30, стор. 89), “тяжіння” замість “притягання” (стор. 74), “(до 1×10^{-6} моль/л)” замість “(до 1×10^{-5} моль/л)” (стор. 77).

Разом з тим, вказані недоліки не стосуються принципів з наукової точки зору моментів, не впливають на якість отриманих результатів та справедливість зроблених висновків, і отже не зменшують позитивного враження від розглянутої дисертації і не знижують її високу оцінку.

7. Відповідність дисертації встановленим вимогам.

В дисертації К.О. Губенко чітко і зрозуміло викладені отримані нею наукові результати, що виносяться на захист. Дисертація написана гарною науковою мовою і якісно оформлена. Усі отримані наукові результати та висновки з них, що виносяться на захист, є оригінальними і отримані дисертанткою особисто чи у співробітництві зі співавторами. Основні результати дисертації опубліковані у 6 статтях в фахових наукових журналах, одному патенті на винахід, а також доповідалися на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях і школах-семінарах. Загальна кількість наукових публікацій, в яких викладені основні наукові та практичні результати дисертації, відповідає вимогам ДАК України. У авторефераті дисертації повністю відображені основний зміст дисертації, її мета і актуальність, новизна одержаних результатів, особистий внесок авторки і висновки.

З огляду на все щойно викладене я вважаю, що дисертаційна робота Губенко К.О. виконана на високому науковому рівні. Представлена праця є закінченим дослідженням; у ній розв'язане важливе та актуальне наукове завдання оптики і лазерної фізики, а саме встановлено особливості взаємодії фотосенсибілізаторів метиленового блакитного та акридинового помаранчевого з поверхнею неорганічних наночастинок-сцинтиляторів та з пористими матрицями, які містять подібні наночастинок, встановлено параметри процесу перенесення енергії електронного збудження з досліджених сцинтиляторів на фотосенсибілізатори в розроблених наносистемах сцинтилятор-фотосенсибілізатор, та визначено найбільш оптимальні наносистеми з точки зору сенсибілізації синглетного кисню. Отримані результати дадуть змогу розробляти наносистеми-сенсибілізатори для фотодинамічної терапії з рентгенівським збудженням. Дисертаційна робота повністю відповідає всім вимогам, які ставляться «Порядком присудження наукових ступенів» до кандидатських дисертацій, а її авторка Губенко К.О. заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 01.04.05 – оптика, лазерна фізика.

Старший науковий співробітник
НДЛ «Електронно-оптичних процесів»
фізичного факультету
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
к.ф.-м.н.

М.Ю. Лосицький

