

## Миграция энергии в апконвертирующих нанокристаллах\*

А.Н. Генералова, Р.А. Акасов, П.А. Демина, К.В. Хайдуков, В.И. Кузьева,  
Д.О. Соловьева, К.Е. Мочалов, В.А. Семчишен, Е.В. Хайдуков

Изучены процессы миграции энергии в апконвертирующих нанокристаллах (АНК) при импульсном возбуждении на длине волны 975 нм, определяющие их квантовую эффективность, что является решающим фактором для широкого применения АНК. При воздействии пикосекундного лазерного излучения проведена контролируемая нанотрансформация трехмерной люминесцентной структуры в одномерную через образование частиц со структурой, напоминающей «медузу». Показано, что в одномерной структуре за процесс апконверсии отвечает миграция энергии между  $\text{Yb}^{3+}$ , как и в случае наночастиц. Получены спектры фотolumинесценции от одиночных АНК. Предложен подход для оценки эффективности безызлучательной передачи энергии в комплексе АНК с флуорофором, учитывающий вклад миграции энергии между ионами сенсбилизатора. Показана перспективность применения АНК в фототермической терапии благодаря поглощению ионов сенсбилизатора  $\text{Yb}^{3+}$ . Продемонстрирован клеточный ответ на гипертермию при участии АНК путем измерения экспрессии белка теплового шока.

**Ключевые слова:** апконвертирующие нанокристаллы, фотolumинесценция, апконверсия, безызлучательная передача энергии, одномерные структуры, фототермическая терапия.

\*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №18-29-20064).

### Введение

В настоящее время большое внимание привлекают наноматериалы с антистоксовой флуоресценцией, в которых реализуется процесс апконверсии, заключающийся в преобразовании низкоэнергетического излучения из ближнего ИК-диапазона спектра в УФ-, видимый и ближний ИК-свет [1]. Неорганические апконвертирующие нанокристаллы (АНК), солегированные с трехвалентными ионами редкоземельных элементов, успешно себя

зарекомендовали в целом ряде приложений, включая наносенсоры, устройства для электроники и оптоэлектроники, антиконтрафактные метки, средства доставки лекарств, агенты для биосепарации и тераностики, солнечные элементы и др. Эффект апконверсии определяет большие перспективы использования АНК в биомедицинских исследованиях, в частности для люминесцентной визуализации на уровне живого организма. Это обусловлено возможностью возбуждения АНК излучением из «окна прозрачности» биоткани (650–1300 нм), при котором наблюдаются минимальное поглощение и рассеяние света, низкая фоновая флуоресценция, минимальное фотоповреждение тканей, что позволяет детектировать полезный фотolumинесцентный (ФЛ)



**ГЕНЕРАЛОВА**  
Алла Николаевна  
Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН



**АКАСОВ**  
Роман Александрович  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН



**ДЕМИНА**  
Полина Андреевна  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН



**ХАЙДУКОВ**  
Кирилл Валерьевич  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН



**КУЗЬЕВА**  
Валерия Ивановна  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН



**СОЛОВЬЕВА**  
Дарья Олеговна  
Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН



**МОЧАЛОВ**  
Константин Евгеньевич  
Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН



**СЕМЧИШЕН**  
Владимир Анатольевич  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН



**ХАЙДУКОВ**  
Евгений Валерьевич  
ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

отклик с высоким отношением сигнал/шум и высоким пространственным разрешением [2]. Кроме того, АНК обладают высокой фотостабильностью, низкой цитотоксичностью и химически инертны [3].

Разработаны различные подходы к синтезу АНК с контролируемым составом, размером, кристаллической фазой, спектральными характеристиками и квантовым выходом [4]. Однако одним из существенных ограничений их использования остается низкая эффективность апконверсии. Изучение процессов миграции энергии как в самих АНК, так и в органо/неорганических конструкциях на их основе, включая исследование свойств одиночных частиц и разработку подходов к биоадаптации наночастиц, позволит получить высокоэффективные наноконструкции для решения задач фотоники и биомедицины.

### Фотофизические процессы, протекающие в апконвертирующих наночастицах

Апконвертирующая наночастица состоит из матрицы, легированной парами трехвалентных ионов лантанидов, например,  $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$  или  $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$  (рис. 1а). Один из ионов, так называемый сенсibilизатор (S), способен эффективно поглотить ИК-фотон и перейти из основного в возбужденное метастабильное состояние. Затем происходит безызлучательный резонансный перенос энергии от S на ион второго типа, так называемый активатор (A). Два возбужденных иона способны эффективно перераспределить коллективную энергию, переводя A в состояния с большей энергией, чем энергия возбуждающего ИК-кванта, при этом S переходит в основное энергетическое состояние. Этот процесс получил название апконверсия [5]. Эффективность такого процесса определяется природой кристаллической матрицы, концентрацией ионов, перекрытием спектров излучения S и поглощения A [6]. Одним из наиболее эффективных

сенсibilизаторов является ион  $\text{Yb}^{3+}$ , обладающий сравнительно большим сечением поглощения в окрестности 980 нм. В качестве активатора, как правило, выступают ионы с набором метастабильных состояний, такие как  $\text{Er}^{3+}$ ,  $\text{Tm}^{3+}$ ,  $\text{Ho}^{3+}$  и  $\text{Nd}^{3+}$ . Каждый ион A имеет свой собственный набор энергетических уровней, что позволяет получить спектр с линиями эмиссии в диапазоне от УФ до ближнего ИК излучения (рис. 1б). На рис. 1д представлены основные люминесцентные полосы АНК, легированных парой ионов  $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$  и  $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ . Кристаллическая матрица нанокристаллов должна обеспечивать требуемое пространственное расположение A и S, обладать асимметричностью кристаллического поля, быть оптически прозрачной и иметь низкую энергию фононов решетки [7, 8]. В настоящее время принято считать, что наиболее эффективной матрицей является соединение  $\text{NaYF}_4$  с гексагональной кристаллической решеткой [9].

Теоретическое описание и моделирование апконверсии обычно сводится к решению уравнений, описывающих заселенности уровней связанной системы ионов сенсibilизатора и активатора. Так, в ряде работ было получено хорошее согласие эксперимента с расчетами апконверсии [10–12]. Однако модели, описывающие энергетический транспорт в наночастицах, не учитывают времени взаимодействия, считая перенос энергии между ионами двух

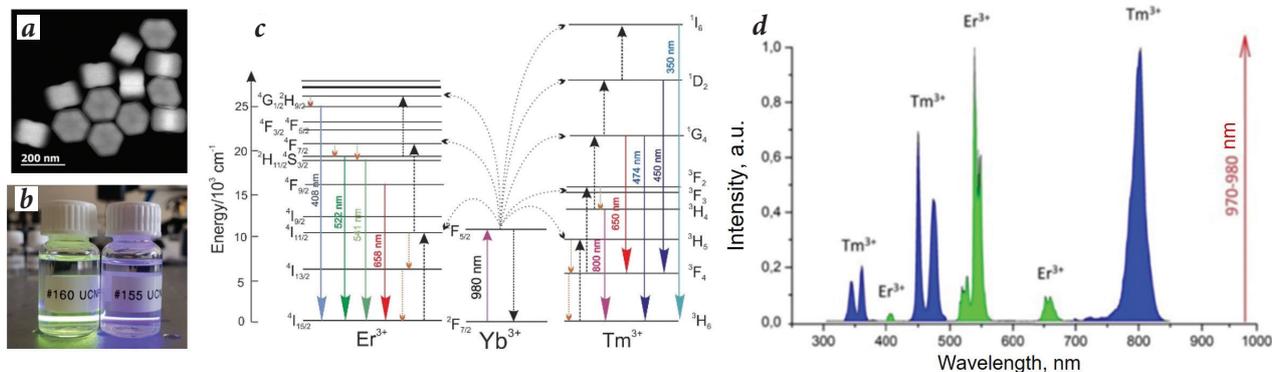


Рис. 1. а – ПЭМ-изображение апконвертирующих наночастиц (АНК), фотография дисперсии АНК в гексане; б – при прохождении лазерного излучения на длине волны 975 нм визуализируется фотолюминесценция наночастиц; в – схема энергетических уровней для пар сенсibilизатор/активатор  $\text{Yb}^{3+}-\text{Er}^{3+}$  и  $\text{Yb}^{3+}-\text{Tm}^{3+}$ , объясняющая механизм апконверсии; д – характерные спектры флуоресценции АНК  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  и  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  при возбуждении лазерным излучением на длине волны 970–980 нм.

типов бесконечно быстрым. По этой причине необходимы дополнительные исследования, позволяющие глубже понять механизм апконверсии.

В данной работе исследовали миграцию энергии в АНК  $\beta\text{-NaYF}_4:20\%\text{Yb}^{3+}; 0.6\%\text{Tm}^{3+}$  (рис. 1b), анализируя спектры и кинетику антистоксовой люминесценции при импульсном режиме возбуждения ИК-излучением с длиной волны 975 нм (длительность импульса от 50 мкс до 2 000 мкс). Была рассмотрена феноменологическая модель, при которой энергия, накопленная в системе при импульсном возбуждении, зависит от длительности импульса и от конечного состояния ионов тулия. После импульсного воздействия наиболее вероятным процессом в системе является безызлучательный транспорт энергии от ионов  $\text{Yb}^{3+}$  к  $\text{Tm}^{3+}$ , и в этот момент вероятность многофотонных процессов максимальна, поскольку каждый ион  $\text{Tm}^{3+}$  окружен множеством возбужденных ионов  $\text{Yb}^{3+}$ . При релаксации  $\text{Tm}^{3+}$  в основное состояние с испусканием фотона вокруг него создается локальный «минимум» в пространственном распределении накопленной наночастицей энергии (рис. 2a). Когда в окрестности иона  $\text{Tm}^{3+}$  количество возбужденных ионов  $\text{Yb}^{3+}$  становится недостаточным для испускания еще одного фотона, то в апконверсии начинают активно участвовать процессы миграции энергии между ионами  $\text{Yb}^{3+}$ , в результате которой возбуждение от удаленных ионов  $\text{Yb}^{3+}$  посредством кросс-релаксации достигает иона  $\text{Tm}^{3+}$ . Детали процессов, описывающих миграцию энергии в АНК, представлены нами в работе [13].

Экспериментальное подтверждение рассматриваемой модели было получено при измерении кинетики люминесценции на длинах волн, соответствующих различным переходам  $\text{Tm}^{3+}$ , требующим участия различного количества квантов ИК-света ( $n$ ). Следует отметить, что сигнал люминесценции на длине волны 800 нм ( $n=2$ ) нарастает сразу после импульсного воздействия, а для люминесценции на более корот-

ких длинах волн характерна значительная задержка развития сигнала от начала импульса. При этом для процесса с большим числом квантов, например,  $n=5$ , задержка составляет  $\tau_{\text{delay}} \sim 250$  мкс. Это время, которое необходимо системе для заселения высоковозбужденного состояния  ${}^1I_6$  при данных условиях эксперимента. Пока система находится под действием лазерного излучения, возбуждение ионов  $\text{Tm}^{3+}$  происходит преимущественно за счет безызлучательного переноса энергии от ближайших  $\text{Yb}^{3+}$ . По окончании действия возбуждающего импульса реализуется представленный выше механизм миграции энергии.

В соответствии с предложенной моделью, минимальный временной интервал между окончанием импульса и достижением максимального сигнала ( $\tau_{\text{max}}$ ) должен наблюдаться в динамике перехода с наибольшим числом необходимых квантов возбуждения  $n$ . В случае АНК  $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  таких переходов два: из состояния иона  $\text{Tm}^{3+} {}^1I_6 \rightarrow {}^3H_6$  и  ${}^1I_6 \rightarrow {}^3H_5$  ( $n=5$ ). Затем максимум по-

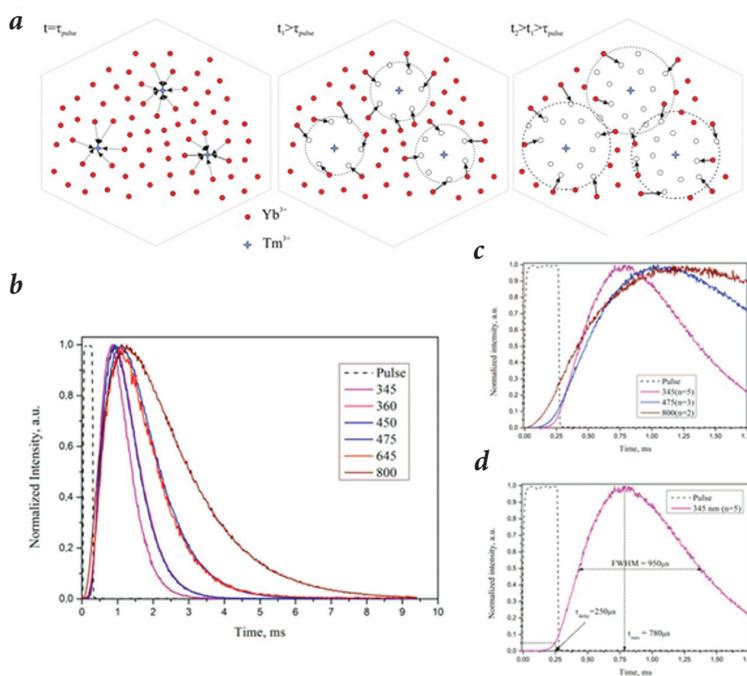


Рис. 2. а – Схема миграции энергии в нанокристалле, демонстрирующая перераспределение энергии в окрестности ионов  $\text{Tm}^{3+}$  (обозначены синими звездочками) после окончания импульса возбуждения. В момент времени  $t = \tau_{\text{min}}$  (соответствует окончанию импульса возбуждения) все ионы  $\text{Yb}^{3+}$  находятся в возбужденном состоянии (обозначены красными кружками). В момент времени  $t_1 > \tau_{\text{min}}$  происходит безызлучательный перенос энергии на  $\text{Tm}^{3+}$  от ближайших  $\text{Yb}^{3+}$  (область обозначена пунктирной окружностью), создавая локальный минимум запасенной энергии (ионы  $\text{Yb}^{3+}$  в основном состоянии обозначены пустыми кружками). В момент времени  $t_2 > t_1 > \tau_{\text{min}}$ , происходит активная миграция энергии между ионами  $\text{Yb}^{3+}$ , в результате которой возбуждение от удаленных  $\text{Yb}^{3+}$  посредством кросс-релаксации достигает иона  $\text{Tm}^{3+}$ . б – Временная динамика люминесценции основных переходов иона тулия при возбуждении импульсом с длительностью 300 мкс (сплошные кривые) и временной профиль возбуждающего импульса на длине волны 975 нм (пунктирная кривая); в – динамика люминесценции на длинах волн 345 нм, 475 нм и 800 нм с лучшим временным разрешением; д – основные параметры кинетики люминесценции на длине волны 345 нм (начало временной шкалы соответствует началу импульса возбуждения.  $\tau_{\text{delay}}$  – временная задержка сигнала от начала возбуждающего импульса;  $\tau_{\text{max}}$  – время достижения максимума сигнала флуоресценции; FWHM – ширина на полувысоте).

следовательно достигают сигналы люминесценции, соответствующие переходам  $^1D_2 \rightarrow ^3H_6$  и  $^1D_2 \rightarrow ^3F_4$  ( $n=4$ ), а также  $^1G_4 \rightarrow ^3H_6$  и  $^1G_4 \rightarrow ^3F_4$  ( $n=3$ ). Экспериментальные данные хорошо согласуются с рассмотренной моделью, согласно которой после импульсного возбуждения основной механизм, отвечающий за динамику люминесценции, – это кросс-релаксация между ионами  $Yb^{3+}$ , которые сначала аккумулируют, а затем распределяют энергию по некоторой эффективной области в наночастице, достигающей при определенных условиях размеров самой наночастицы. Таким образом, показана особая роль миграции энергии между ионами иттербия, которые выполняют роль «аккумуляторов» энергии, способных перераспределять ее по всей наночастице. Эти результаты должны учитываться при теоретическом описании и моделировании процесса апконверсии в наночастицах.

### Фотофизические процессы в одномерных апконвертирующих структурах

Большой интерес для решения задач нанотехнологии представляют одномерные наноструктуры [14]. В данной работе представлен подход к получению одномерной наноструктуры АНК путем контролируемой динамической нанотрансформации люминесцентной наночастицы в одномерную через образование частиц необычной архитектуры, напоминающей «медузу». Такая трансформация была реализована при воздействии лазерного излучения пикосекундной длительности на дисперсию наночастиц [15]. 1D-структуры получали при обработке АНК пикосекундным лазером (лазерная система TruMicro 5 250 (Trumpf GmbH, Германия), дли-

тельность импульса 7 пс, длина волны 1 030 нм, энергия импульса 200 мкДж, частота следования импульсов 200 кГц) через образование промежуточных структур: облучение в течение 1 мин приводило к формированию на поверхности АНК сферических наночапель, в течение 5 мин – наночастиц с типичным размером 5–10 нм в диаметре и длиной ~100 нм; в течение 10 мин – наночастиц с диаметром 5–10 нм и длиной до 300 нм, образующие структуры, похожие на «медузу» (рис. 3). Увеличение длительности лазерной обработки до 30 мин приводило к разрушению структур типа «медуза» с превращением большей части наночастиц в отдельные наностержни. Химический состав и кристаллическая структура наностержней были аналогичны исходным гексагональным АНК (пространственная группа  $R\bar{6}3/m$ ).

Кинетика люминесценции при импульсном возбуждении в одномерных апконвертирующих наночастицах по сравнению с трехмерными наночастицами также указывает на ключевую роль миграции энергии между ионами  $Yb^{3+}$  в процессе апконверсии. При непрерывном возбуждении спектр фотолюминесценции 1D-структур неотличим от наночастиц (рис. 3d), получаемых в процессе воздействия пикосекундных лазерных импульсов. Однако при импульсном возбуждении на длине волны 975 нм процесс миграции энергии приводит к существенным различиям в кинетике антистоксовой люминесценции. Кинетические закономерности изменения ФЛ наноструктур, полученные при импульсном возбуждении длительностью 1 мс и постоянной частоте следования 50 Гц возбуждающего излучения с длинной волны 975 нм, представлены на рис. 4. В случае 3D-структуры, как было показано в предыдущем параграфе, обнаруживается различное время задержки нарастания сигнала люминесценции для различных переходов  $Tm^{3+}$  и наблюдается временной сдвиг максимумов ФЛ с разными  $n$  (рис. 4). В случае одномерной структуры безызлучательный перенос энергии от  $Yb^{3+}$  к  $Tm^{3+}$  ограни-

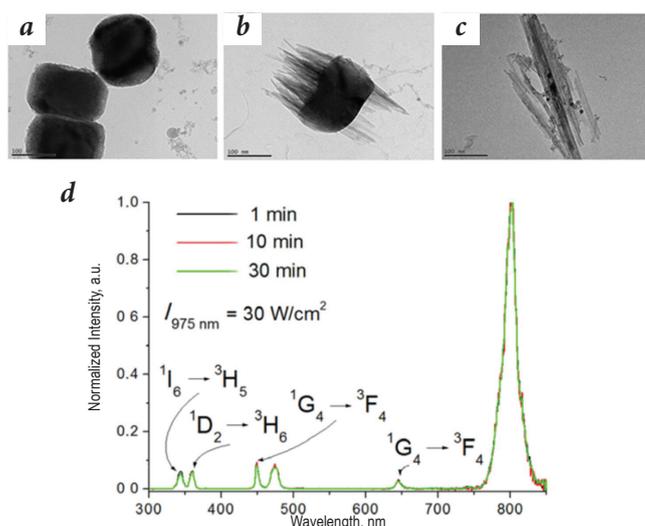


Рис. 3. ПЭМ-изображение АНК после обработки пикосекундными лазерными импульсами. Время воздействия: 1 минута (а), 10 минут (б) и 30 минут (с). Спектры флуоресценции АНК получены при возбуждении непрерывным лазерным излучением (975 нм) с интенсивностью 30 Вт/см<sup>2</sup>: 1 мин – 3D-наночастицы, 10 мин – «медузоподобные» наноструктуры, 30 мин – 1D-наночастицы (d).

чен одним направлением. Это приводит к сценарию, в котором уменьшает вероятность процесса апконверсии. В результате максимумы кинетики ФЛ различных линий ионов тулия смещаются к импульсу возбуждения по сравнению с 3D-наночастицами. «Медузоподобные» структуры характеризуются суперпозицией кинетики ФЛ для одномерных структур и наночастиц.

Исходя из положения атомов в кристаллической структуре  $\beta\text{-Na}_{1.5}\text{Y}_{1.5}\text{F}_6:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$ , можно рассчитать диаметр 1D-наноструктуры, в которой миграция энергии происходит строго в одном направлении. Катион редкоземельных элементов занимает смешанное положение Вайкоффа:  $2d$  с катионом  $\text{Na}^+$  в структуре. Минимальное расстояние между катионами редкоземельных элементов реализуется в направлении  $[0\ 001]$ . При диаметре наностержня  $\sim 3.6$  нм и типичном уровне легирования в 20% количество ионов  $\text{Yb}^{3+}$  в слое составляет, в среднем, 1.8 вдоль направления  $[0\ 001]$ . Ионы  $\text{Tm}^{3+}$  находятся в каждом 18-м таком слое. Этот факт ограничивает миграцию энергии в базовой плоскости, поскольку сеть ионов сенсibilизатора реализуется только в направлении  $[0\ 001]$ . Следовательно, «истинная» одномерная апконвертирующая структура может быть сформирована при диаметре менее 4 нм, что и наблюдалось при перекристаллизации наночастиц с использованием пикосекундных лазерных импульсов.

Следует отметить, что полученные структуры АНК со сложной архитектурой имеют большой потенциал для их использования в биоприложениях. Например, наноструктуры, подобные «медузам», могут быть использованы для повышения эффективности при безызлучательной передаче энергии. Увеличение площади поверхности наноструктур обеспечивает большее количество доступных для передачи энергии ионов, что повышает эффективность передачи энергии возбуждения с наночастицы на молекулы акцептора. Кроме того, разработанная технология обработки наночастиц пи-

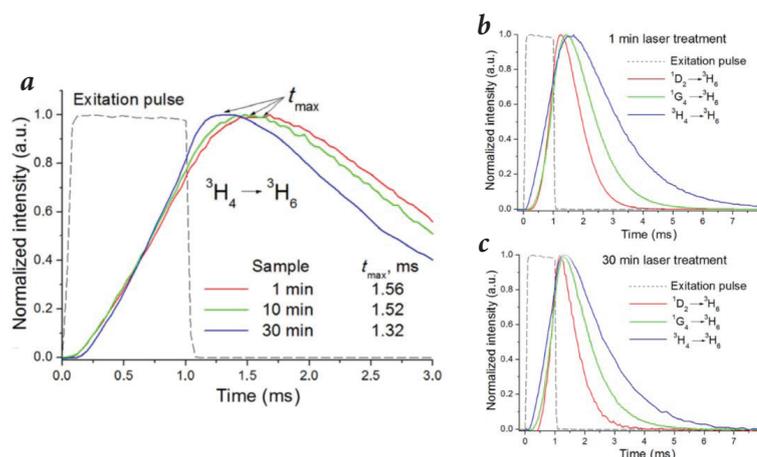


Рис. 4. Кинетика люминесценции на длине волны 800 нм, демонстрирующая существенные различия во временах нарастания и достижения максимума флуоресценции наноструктур (а). Временная зависимость люминесценции переходов  $\text{Tm}^{3+}$  (800 нм – синяя, 475 нм – зеленая, 360 нм – красная кривые) при импульсном возбуждении на 975 нм для 3D-наночастиц (b) и 1D-наночастиц (c). Длительность возбуждающего импульса составляет 1 мс (пунктир); 1 мин – 3D-наночастицы, 10 мин – «медузоподобные» наноструктуры, 30 мин – 1D-наночастицы. Все сигналы приведены к единице. Начало шкалы времени соответствует началу возбуждающего импульса.

косекундными лазерными импульсами позволяет получать биосовместимые коллоидно-стабильные водные дисперсии АНК без стадии модификации поверхности, которые могут найти приложения в качестве наноагентов для биовизуализации и терапии.

### Перенос энергии в комплексе «апконвертирующий нанокристалл/флуорофор»

Наноконплексы АНК/флуорофор, в которых реализуется безызлучательный перенос энергии (рис. 5), находят применение для решения различных задач [16, 17]. Проведенное исследование по изучению временной динамики фотолюминесценции АНК поставило вопрос о корректности использования фёрстеровского формализма (FRET) для оценки эффективности безызлучательного переноса энергии в таких системах. Известно, что эффективность FRET  $\epsilon$  в паре донор-акцептор в зависимости от расстояния  $r$  описывается уравнением:

$$\epsilon(r) = \frac{R_F^6}{r^6 + R_F^6}, \quad (1)$$

где  $R_F$  – это расстояние между донором и акцептором, при котором эффективность переноса энергии составляет 50% (так называемый фёрстеровский радиус). Доступные из эксперимента времена жизни донора  $\tau_D$ , а также время жизни донора в присутствии акцептора  $\tau_{DA}$ , обычно используются для определения эффективности процесса безызлучательного переноса энергии:

$$\epsilon = 1 - \frac{\tau_{DA}}{\tau_D}. \quad (2)$$

В случае таких объектов, как молекулы, справедливость обеих формул не подлежит сомнению, а их совместное использование позволяет получать инфор-

мацию, например, о конформационных изменениях в структуре белков и ДНК молекул [18, 19]. В случае апконвертирующей наночастицы, представляющей динамическую систему, оба параметра,  $\tau_{DA}$  и  $\tau_D$ , являются зависимыми от процесса миграции энергии в наночастице, определяемой величиной  $\tau_{migr}$ . При этом использование формулы (2) будет давать ошибки для оценки эффективности переноса в зависимости от спектра поглощения флуорофора, который возбуждается от перехода иона активатора в АНК с конкретным числом квантов возбуждения  $n$ . Иными словами, кинетика ФЛ акцептора в системе АНК/флуорофор (где наночастица выступает в роли донора энергии) должна определяться всеми процессами, влияющими на перенос энергии в системе (например, перенос энергии в системе АНК/ИК-краситель представлен на рис. 5а) [20]. Эти процессы включают девозбуждение легирующих ионов АНК за счет переноса энергии на флуорофор, а также миграцию энергии внутри наночастицы, непрерывно «подпитывающей» ионы-активаторы, которые играют роль доноров для флуорофора.

Фактически, процесс миграции энергии посредством кросс-релаксации в ионах  $Yb^{3+}$  в апконвертирующих наноструктурах приводит к тому, что импульс возбуждения ФЛ АНК на длине волны 975 нм как бы «затягивается», что приводит к неадекватной оценке времени жизни ионов  $Tm^{3+}$  или  $Er^{3+}$ . Этот эффект неизбежно будет приводить и к ошибочным измерениям эффективности безызлучательного резонансного переноса энергии при использовании фёрстеровского формализма, что было продемонстрировано на примере комплекса

АНК/хлорин е6. Линия фотолюминесценции наночастиц  $NaYF_4:Yb^{3+}; Er^{3+}$  находится в окрестности длины волны 665 нм ( $Er^{3+}$  переход  $^4F_{9/2}$  в основное состояние, рис. 1b) и попадает в полосу поглощения хлорина е6. Из спектров, представленных на рис. 5b, видно, что хлорин, находящийся в комплексе с АНК, возбуждается линиями антистоксовой ФЛ при накачке наночастиц лазером на длине волны 975 нм (широкая полоса ФЛ в окрестности 700 нм). Для оценки эффективности передачи энергии, исходя из фёрстеровского формализма, были произведены измерения времен жизни перехода  $Er^{3+}$  на длине волны 665 нм. При возбуждении лазерным импульсом с длительностью 500 мкс время жизни  $Er^{3+}$  составляло 650 мкс для АНК, и 600 мкс – для комплекса АНК/хлорин е6. Анализ экспоненциального распада проводился по уровню 0.5. Фёрстеровский формализм приводил к оценке эффективности безызлучательного переноса энергии от наночастицы на молекулу флуорофора – 8%.

Более интересным является исследование наноконфлюэтов в режиме насыщения, то есть когда выполняется супралинейная зависимость мощности излучения наночастиц от интенсивности возбуждения или  $P_{em} = \sigma_{abs} I_{ex}^N$  при  $N=1$  (где  $\sigma_{abs}$  – сечение поглощения,  $P_{em}$  – мощность излучения АНК,  $I_{ex}$  – интенсивность возбуждения с длиной волны 975 нм,  $N$  – количество поглощенных фотонов с длиной волны 975 нм). В этом случае на участке возбуждения, где происходит постоянная подкачка импульсом девозбужденных ионов  $Yb^{3+}$  (участок в импульсе возбуждения на рис. 5с), вклад миграции энергии в процесс апконверсии будет минимальным. При этом, поскольку в паре АНК/флуорофор появляется дополнительный канал оттока энергии (на флуорофор), можно зарегистрировать изменения на графике кинетики ФЛ соответствующего перехода  $Er^{3+}$ . Для оценки истинной эффективности безызлучательного переноса энергии можно использовать следующий подход. При сохранении длительности

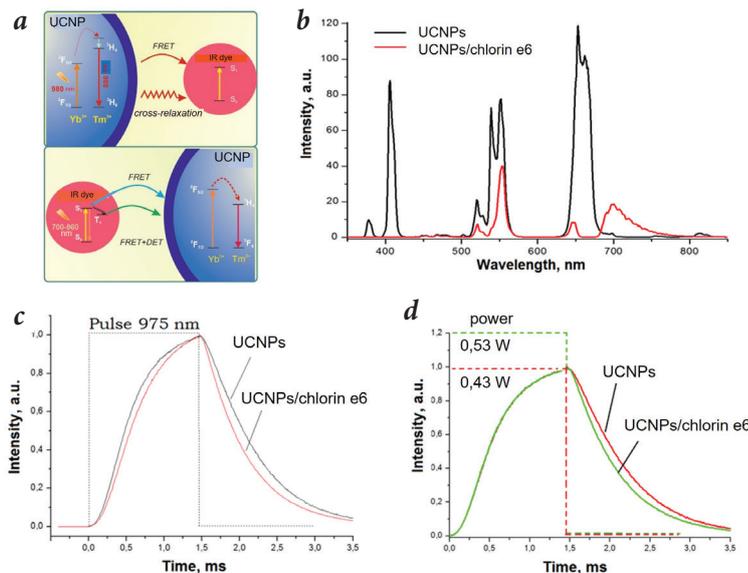


Рис. 5. а – Схема передачи энергии от АНК к флуорофору и в обратном направлении на примере комплекса АНК/ИК-краситель; б – спектры фотолюминесценции АНК (черная кривая) и комплекса АНК/хлорин е6 (красная кривая); в – кинетика ФЛ перехода  $Er^{3+}$  на длине волны 665 нм в АНК и комплексе АНК/хлорин е6 при равной мощности возбуждающего импульса и д – при различной мощности возбуждающего импульса при прочих равных условиях. Пунктиром обозначен импульс возбуждения.

возбуждающего импульса необходимо увеличивать его амплитуду до тех пор, пока не произойдет выравнивание кинетики ФЛ комплекса наночастица/флуорофор с кинетикой ФЛ АНК в отсутствие акцептора энергии. Причем выравнивание должно произойти в импульсе возбуждения, где вклад процесса миграции энергии минимален. В результате разница энергии в импульсе возбуждения, который необходим для выравнивания кинетики ФЛ, будет соответствовать энергии, которая необходима системе для компенсации безызлучательной передачи энергии на флуорофор.

На рис. 5d представлена кинетика ФЛ  $\text{Er}^{3+}$  перехода ( $\lambda=665$  нм) в АНК и комплексе АНК/хлорин еб, когда для возбуждения комплекса использовали импульс с большей амплитудой. Средняя мощность лазерного излучения при возбуждении АНК составляла 0.43 Вт, а при возбуждении комплексов – 0.53 Вт. Увеличение энергии в импульсе возбуждения привело к выравниванию кинетики ФЛ АНК и комплексов в импульсе возбуждения. Можно заключить, что истинная эффективность безызлучательной передачи энергии составляет ~20%, и превосходит значение эффективности, получаемой при анализе энергии распада переходов (8%).

### Фотолюминесценция единичных апконвертирующих нанокристаллов

Разброс наночастиц по размерам, тушение флуоресценции на дефектах кристаллической структуры, коллективные эффекты, плохо контролируемая концентрация красителей на поверхности существенно затрудняют анализ кинетики фотолюминесценции гибридных органо-неорганических наноструктур и, как следствие, препятствуют пониманию физических процессов, протекающих в отдельных АНК. Для детального изучения таких наноструктур необходимы исследования фотолюминесцентных свойств одиночных АНК. Для получения спектров флуоресценции единичных АНК

и их кластеров использовалась уникальная научная установка «Система зондово-оптической 3D корреляционной микроскопии» (<http://ckp-rf.ru/usu/486825/>), входящая в состав оборудования ЦКП ИБХ РАН [21]. Измерительная процедура, реализуемая на установке, сводится к следующему: агрегатное состояние наночастиц определяется методом атомно-силовой микроскопии (АСМ); по полученным изображениям, используя данные СЭМ, делается заключение, является ли обнаруженный в АСМ объект единичным или кластером из наночастиц; далее методом конфокальной микроспектроскопии получают спектры флуоресценции от каждого типа объектов. Таким образом, в основе установки лежит идея объединения конфокальной и атомно-силовой микроскопии, включающая в себя две независимые системы – конфокальную систему регистрации вторичного излучения (флуоресценция) и конфокальную систему регистрации отраженного лазерного излучения. Обе системы объединены единой сканирующей шестиканальной системой управления пьезоактюаторами, которые могут работать как вместе, так и независимо.

В ходе эксперимента АНК  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  наносили на стеклянные подложки и исследовали с помощью установки наноспектрофотометрии. С использованием АСМ были идентифицированы одиночные наночастицы (зона 1) и их агломераты (зона 2) (рис. 6). Совмещение АСМ с конфокальным люминесцентным микроскопом позволило зарегистрировать спектр фотолюминесценции от одиночной АНК (рис. 6b) и их

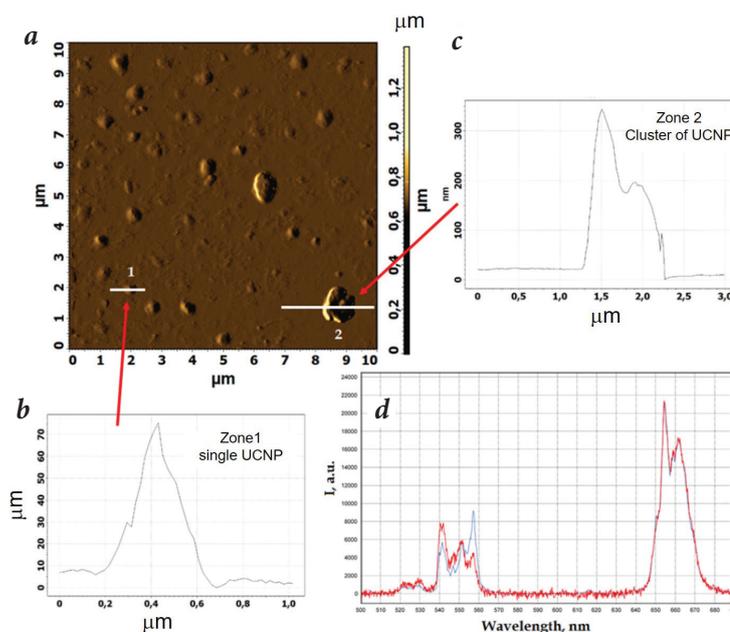


Рис. 6. АСМ-изображение наночастиц  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  и их агломератов, нанесенных на стеклянную подложку (а), профили соответствующих участков анализа (b, c) и их нормированные спектры фотолюминесценции при возбуждении излучением на длине волны 975 нм (d). Красная кривая – зона 1, время накопления сигнала 100 с. Синяя кривая – зона 2, время накопления сигнала 0.1 с. Спектр кластера умножен на коэффициент 0.55 для нормировки по пику 654 нм.

агломерата (рис. 6с). Видно, что спектры фотолуминесценции различаются в окрестности полосы на длине волны 550 нм (рис. 6d) и различия закономерно повторялись при изменении областей анализа. Это различие, по нашему мнению, связано с взаимодействиями отдельных наночастиц в составе агломерата или ближнепольным взаимодействием, что, вероятно, отражается как на процессе миграции энергии, так и заселенности состояний ионов  $\text{Er}^{3+}$ .

### Фототермические свойства апконвертирующих нанокристаллов

Наночастицы имеют большой потенциал для их использования в качестве агентов для фототермической терапии (ФТТ). При поглощении света они могут являться источниками тепла на наноуровне, что может приводить к гибели опухолевых клеток при незначительных побочных эффектах для нормальной ткани, по сравнению с использованием ультразвуковых и микроволновых методов нагрева биотканей. Как правило, локальный перегрев биотканей достигается за счет использования материалов с большим сечением поглощения света [22]. В литературе представлены исследования по использованию в ФТТ композитных АНЧ с углеродом [23], золотом и железом [24], графеном, кремнием [25]. Наши исследования продемонстрировали возможность использовать АНЧ, поглощающие свет в ближней ИК-области спектра, для локального перегрева биоткани без вспомогательных компонентов, например, наночастиц металлов, или создания специальных покрытий на поверхности для усиления коэффициента поглощения.

Перегрев биотканей способен вызвать несколько эффектов, которые приводят к гибели клеток путем некроза или апоптоза [26]. Белки теплового шока (HSP (англ.) – heat shock protein) – это класс функционально сходных белков, играющих важную роль в фолдинге и внутриклеточном транспорте белков, экспрессия

которых усиливается при повышении температуры. Эти белки являются ключевыми детерминантами выживания клеток в стрессовых условиях [27], в частности, в процессе апоптоза [28].

В ходе работы оценили экспрессию белка семейства HSP70 в качестве маркера клеточного ответа на перегрев, вызванный фотоактивацией АНЧ (рис. 7a). Для этого клетки инкубировали с АНЧ в течение 30 минут, затем облучали лазером с длиной волны 975 нм до достижения критической температуры для экспрессии HSP. Температура в ходе эксперимента достигала  $40.5 \pm 0.1$  °C, что ниже 41–42 °C, необходимых для индукции HSP, однако относительный уровень экспрессии гена HSPA1A (семейство HSP70) был примерно в 3.5 раза выше по сравнению с контрольным образцом, который не облучали при прочих равных условиях (рис. 7b). При этом не было значительного увеличения экспрессии гена HSPA1A для клеток, не инкубированных с АНЧ и нагретых при тех же настройках лазера до температуры  $39.5 \pm 0.3$  °C. Поскольку этот эффект можно объяснить незначительной разницей температур между образцами без и с АНЧ, был проведен дополнительный эксперимент, в котором оба образца нагревали лазерным излучением с различными параметрами до равной температуры  $40.6 \pm 0.5$  °C. Найдено, что участие АНЧ увеличивает экспрессию HSPA1A примерно в 4.5 раза по сравнению с фоновым образцом и негативным контролем. Это можно объяснить локализованным характером нагрева, связанным с АНЧ, то есть локальная температура в окрестности наночастиц может быть значительно выше измеряемой температуры окружающей среды [29].

Для объяснения экспериментальных результатов были выполнены оценки сечения поглощения перехода  ${}^2F_{5/2} \rightarrow {}^2F_{7/2}$  для ионов  $\text{Yb}^{3+}$  в АНЧ. Это значение составило  $\sigma_{\text{abs}} = 2 \cdot 10^{-19}$  см<sup>2</sup>. В настоящее время в качестве эталона для АНЧ принято использовать относительно низкое значение сечения поглощения перехода  $\text{Yb}^{3+}$ , равное  $2 \cdot 10^{-20}$  см<sup>2</sup>. Это зна-

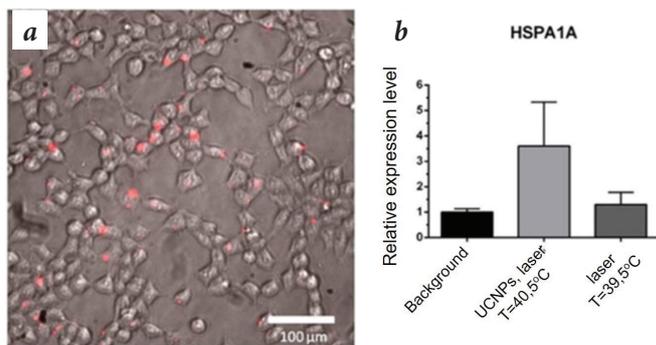


Рис. 7. а – Накопление АНЧ (красные точки) в клетках А375; б – экспрессия HSPA1A в клетках меланомы человека А375, количественный анализ ПЦР: фоновый образец (без АНЧ, без облучения), образец (0.1 мг/мл АНЧ, облучение 975 нм), контрольный образец (без АНЧ, облучение 975 нм).

чение для перехода  ${}^2F_{5/2} \rightarrow {}^2F_{7/2}$  ионов  $\text{Yb}^{3+}$  было измерено на длине волны 980 нм в матрице из германосиликатного стекла [30] и оно, очевидно, не учитывало симметрию кристаллической матрицы. Как известно,  $\sigma_{\text{abs}}$  может изменяться в зависимости от типа кристаллической матрицы, что связано со штарковским расщеплением уровней. Например, сечение поглощения ионов  $\text{Nd}^{3+}$ , которые также используются в качестве сенсibilизаторов в АНК, может изменяться на три порядка в зависимости от кристаллической матрицы [31]. Фторидные кристаллы с низкой симметрией  $\text{LiLnF}_4$  и  $\text{BaLn}_2\text{F}_8$  увеличивают сечение поглощения на два порядка по сравнению с оксидными матрицами с кубической симметрией [32, 33]. Вопрос о сечении поглощения легирующих ионов в нанокристаллах, вероятно, еще более сложен, поскольку симметрия кристалла на наноразмерном уровне может быть нарушена из-за геометрических факторов. Таким образом, значение сечения поглощения иона  $\text{Yb}^{3+}$  на сегодняшний день является открытым вопросом и требует детального анализа, поскольку прямые измерения с использованием интегрирующей сферы показывают, что сечение поглощения  $\text{Yb}^{3+}$  в матрице  $\beta\text{-NaYF}_4$  относительно велико.

## Заключение

В работе представлены подходы для изучения процессов миграции энергии в АНК и наноконструкциях, что позволит глубже разобраться в фотофизических процессах, понимание которых необходимо для повышения квантовой эффективности АНК. Предложена феноменологическая модель, описывающая процесс миграции энергии в АНК, где ионы  $\text{Yb}^{3+}$  выполняют роль «аккумуляторов» энергии, перераспределяя запасенное возбуждение по всей наночастице посредством кросс-релаксации. Установлено, что значительная временная задержка в достижении максимумов ФЛ соответствует различным переходам иона  $\text{Tm}^{3+}$  в ИК-, видимой и УФ-областях

спектра. Продемонстрировано, что воздействие излучения пикосекундной лазерной длительности приводит к контролируемой динамической нанотрансформации трехмерной люминесцентной структуры в одномерную через образование частиц необычной архитектуры, напоминающей «медузу». В случае одномерной структуры безызлучательный перенос энергии сенсibilизатора к активатору ограничен одним направлением, что уменьшает вероятность процесса апконверсии и приводит к сдвигу максимумов кинетики ФЛ различных линий ближе к импульсу возбуждения в сравнении с наночастицами. Лазерная обработка ультракороткими импульсами может рассматриваться как технология нового поколения, позволяющая синтезировать АНК с предсказуемой морфологией, кристаллической структурой и функциональностью. Предложен подход, позволяющий проводить оценку эффективности безызлучательной передачи энергии в комплексе АНК/флуорофор. Показано, что фёрстеровский формализм для подобных систем не отражает в полной мере картину происходящих явлений, поскольку не учитывает вклад миграции энергии между ионами сенсibilизатора. Разработан подход для оценки флуоресцентных свойств индивидуальных и кластеров АНК методом наноспектрофотометрии. Показано, что АНК имеют большие перспективы для применения в фототермической терапии, поскольку при определенных условиях они могут приводить к локальному нагреванию биоткани благодаря поглощению света из ближней ИК-области спектра.

## Перспективы развития тематики

АНК являются универсальной платформой для создания многофункциональных контрастных агентов в передовых биомедицинских технологиях. Уникальные оптические свойства – отсутствие фотомерцания, фотообесцвечивания, фоновой флуоресценции; минимальное фотоповреждение биотканей; низкая токсичность; большой антистоксовский сдвиг и глубина проникновения возбуждающего света; значительное отношение сигнал/шум – позволяют получать высококонтрастные изображения, что определяет их широкое применение в *in vitro* и *in vivo* исследованиях. Возможность варьирования состава и структуры матрицы, композиции легирующих ионов редкоземельных элементов и поверхностная функционализация лежат в основе молекулярного дизайна мультимодальных АНК, сочетающих в одном типе наночастиц свойства биозондов для оптической визуализации, магнитно-резонансной, компьютерной или позитронно-эмиссионной томографии.

Практическое применение АНК ставит вопрос улучшения их оптических свойств, контроля формы, узкого распределения по заданным размерам, свойств поверхности, а также требует разработки новых подходов

для создания тераностических агентов, применимых как для диагностики, так и для терапии.

В частности, АНК с размером меньше 60 нм, который является оптимальным для накопления и визуализации опухоли, обладают относительно слабым сигналом флуоресценции при низкой интенсивности возбуждения ( $10^{-2}$ – $10^{-1}$  Вт/см<sup>2</sup>). Это связано с низким квантовым выходом и процессами дезактивации на поверхности АНК. Решение этих проблем требует оптимизации состава и структуры наночастиц, формирование структуры ядро/оболочка, организации процесса безызлучательной передачи энергии с участием красителей, плазмонных наночастиц, квантовых точек или других компонентов с большим сечением поглощения. Несмотря на интенсивные исследования в этой области, существует необходимость теоретической и экспериментальной работы для понимания пространственного распределения легирующих компонентов, определения их оптимальной концентрации на уровне отдельных частиц и дальнейшего углубленного изучения механизмов миграции энергии в АНК. Стандартная длина волны возбуждения АНК (975 нм) не является оптимальной, поскольку попадает в область поглощения воды, что может привести к перегреву и повреждению биологических тканей. Поскольку нелинейный характер процесса апконверсии требует относительно высокой интенсивности возбуждающего излучения в глубине биоткани, то замена длины волны возбуждения на ~800 нм позволит значительно минимизировать проблему перегрева. В окрестности длины волны 800 нм поглощение воды более чем в три раза ниже, чем при 980 нм. Оптимизировать длину волны возбуждения можно, используя в качестве сенсibilизатора ион Nd<sup>3+</sup>, который обеспечивает протекание процесса апконверсии при длине волны возбуждения 795 нм и позволяет детектировать флуоресценцию на большей глубине биоткани.

Мультимодальные АНК по сравнению с одномодальными могут предоставить больше информации, тем самым повышая точность диагностики. Однако при получении мультимодальных наночастиц существуют проблемы, связанные с поддержанием коллоидной стабильности, специфичности целевой доставки, биосовместимости и токсичности. Сочетание различных модальностей в одной наночастице обычно требует сложной синтетической процедуры и построения

гетерогенной структуры, которая может содержать ионы красителя, радиоактивные элементы, наночастицы металлов или их оксидов, биологически активные молекулы и др., что очень сложно контролировать. Кроме того, сложность разработки мультимодальных АНК связана в некоторых случаях с ограниченной контрастностью, определяемой возможностью использовать только фиксированную концентрацию компонента, несущего дополнительную модальность.

АНК являются многообещающими агентами для решения задач тераностики, поэтому их требуется тщательно охарактеризовать с точки зрения системной токсичности, времени и пути выведения из организма, а также долгосрочных последствий их присутствия. Многочисленные биомедицинские исследования продемонстрировали их краткосрочную безопасность *in vitro* и *in vivo*. Однако их хронические токсические эффекты, потенциальное накопление в органах и их выведение из организма относятся к неизученной области. Кроме того, взаимодействие АНК с иммунной системой, влияние на репродуктивную функцию и следующее поколение требуют дальнейших исследований. Таким образом, по-прежнему необходимы систематические исследования, подтверждающие безопасность АНК для их внедрения в клиническую практику.

*Основная часть работы выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №18-29-20 064); авторы также выражают благодарность программе «Приоритет-2030», проводимой под руководством молодых перспективных исследователей (лаборатория «Лазерные технологии для биомедицинских технологий» МПГУ).*

## Литература

1. L. Cheng, C. Wang, Z. Liu *Nanoscale*, 2013, 5(1), 23. DOI: 10.1039/c2nr32311g.
2. D. Yang, P. Ma, Z. Hou, Z. Cheng, C. Li, J. Lin *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(6), 1416. DOI: 10.1039/C4CS00155A.
3. E.V. Khaydukov, V.A. Semchishen, V.N. Seminogov, V.I. Sokolov, A.P. Popov, A.V. Bykov, A.V. Nechaev, A.S. Akhmanov, V.Y. Panchenko, A.V. Zvyagin *Laser Phys. Lett.*, 2014, 11, 095602. DOI:10.1088/1612-2011/11/9/095602.
4. J. Shan, Y. Ju *Nanotechnology*, 2009, 20(27), 275603. DOI: 10.1088/0957-4484/20/27/275603.
5. A. Nadort, J. Zhao, E.M. Goldys *Nanoscale*, 2016, 8(27), 13099. DOI: 10.1039/c5nr08477f.
6. A.N. Generalova, B.N. Chichkov, E.V. Khaydukov *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2017, 245, 1. DOI: 10.1016/j.cis.2017.05.006.
7. C.T. Xu, Q. Zhan, H. Liu, G. Somesfalean, J. Qian, S. He, S. Andersson-Engels *Laser Photon.*, 2013, 7(5), 663. DOI: 10.1002/lpor.201200052.
8. M. Haase, H. Schäfer *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2011, 50(26), 5808. DOI: 10.1002/anie.201005159.
9. D.T. Klier, M.U. Kumke *J. Mater. Chem. C*, 2015, 3(42), 11228. DOI: 10.1039/c5tc02218e.
10. А.И. Бурдунин *ЖЭТФ*, 1972, 62(5), 1695.
11. J.G. Solé, L. Bausá, D. Jaque *An Introduction to the Optical Spectroscopy of Inorganic Solids*, UK, Chichester, Wiley, 2005, 304 pp.
12. P. Villanueva-Delgado, K.W. Krämer, R. Valiente *J. Phys. Chem. C*, 2015, 119(41), 23648. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b06770.
13. S. Alyatkin, I. Asharchuk, K. Khaydukov, A. Nechaev, O. Lebedev, Y. Vainer, V. Semchishen, E. Khaydukov *Nanotechnology*, 2017, 28(3), 035401. DOI: 10.1088/1361-6528/28/3/035401.
14. A.N. Generalova, V.A. Oleinikov, E.V. Khaydukov *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2021, 297, 102543. DOI: 10.1016/j.cis.2021.102543.
15. L. Sajti, D.N. Karimov, V.V. Rocheva, N.A. Arkharova, K.V. Khaydukov, O.I. Lebedev, A.E. Voloshin, A.N. Generalova, B.N. Chichkov, E.V. Khaydukov *Nano Res.*, 2021, 14, 1141. DOI: 10.1007/s12274-020-3163-4.
16. S. Lu, J. Ke, X. Li, D. Tu, X. Chen *Aggregate*, 2021, 2, e137. DOI: 10.1002/agt2.137.
17. X. Zou, M. Xu, W. Yuan, Q. Wang, Y. Shi, W. Feng, F. Li *Chem. Commun.*, 2016, 52(91), 13389. DOI: 10.1039/C6CC07180E.
18. A.K. Woźniak, G.F. Schröder, H. Grubmüller, C.A.M. Seidel, F. Oesterhelt *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, 105(47), 18337. DOI: 10.1073/pnas.0800977105.
19. T. Heyduk *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2002, 13(4), 292. DOI: 10.1016/s0958-1669(02)00332-4.
20. C. Du, H. Wang, F. Yang, P.C. Hammel *Phys. Rev. B*, 2014, 90(14), 140407. DOI: 10.1103/PhysRevB.90.140407.
21. K.E. Mochalov, A.E. Efimov, A. Bobrovsky, I.I. Agapov, A.A. Chistyakov, V.A. Oleinikov, A. Sukhanova, I. Nabiev *ACS Nano*, 2013, 7(10), 8953. DOI: 10.1021/nn403448p.
22. A. Jordan, P. Wust, H. Fählring, W. John, A. Hinz, R. Felix *Int. J. Hyperth.*, 2009, 25(7), 499. DOI: 10.3109/02656730903287790.
23. X. Zhu, W. Feng, J. Chang, Y.-W. Tan, J. Li, M. Chen, Y. Sun, F. Li *Nat. Commun.*, 2016, 7, 10437. DOI: 10.1038/ncomms10437.
24. L. Cheng, K. Yang, Y. Li, J. Chen, C. Wang, M. Shao, S.-T. Lee, Z. Liu *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2011, 50(32), 7385. DOI: 10.1002/anie.201101447.
25. A. Gulzar, J. Xu, D. Yang, L. Xu, F. He, S. Gai, P. Yang *Dalt. Trans.*, 2018, 47(11), 3931. DOI: 10.1039/c7dt04141a.
26. J.R. Melamed, R.S. Edelstein, E.S. Day *ACS Nano*, 2015, 9(1), 6. DOI: 10.1021/acsnano.5b00021.
27. J. Wu, T. Liu, Z. Rios, Q. Mei, X. Lin, S. Cao *Trends Pharmacol. Sci.* 2017, 38(3), 226. DOI: 10.1016/j.tips.2016.11.009.
28. D. Lanneau, M. Brunet, E. Frisan, E. Solary, M. Fontenay, C. Garrido *J. Cell. Mol. Med.*, 2008, 12(3), 743. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00273.x.
29. I.V. Krylov, R.A. Akasov, V.V. Rocheva, N.V. Sholina, D.A. Khochenkov, A.V. Nechaev, N.V. Melnikova, A.A. Dmitriev, A.V. Ivanov, A.N. Generalova, E.V. Khaydukov *Front. Chem.*, 2020, 8, 895. DOI: 10.3389/fchem.2020.00295.
30. R. Paschotta, J. Nilsson, A.C. Tropper, D.C. Hanna *IEEE J. Quantum Electron.*, 1997, 33(7), 1049. DOI: 10.1109/3.594865.
31. A.A. Kaminskii, N.R. Agamalyan, G.A. Deniseneo, S.E. Sarkisov, P.P. Fedorov *Phys. Stat. So. (a)*, 1982, 70(2), 397. DOI: 10.1002/pssa.2210700206.
32. L. Esterowitz, F.J. Bartoli, R.E. Allen *J. Lumin.*, 1979, 21(1), 1. DOI: 10.1016/0022-2313(79)90030-9.
33. A.A.S. da Gama, G.F. de Sá, P. Porcher, P. Caro *J. Chem. Phys.*, 1981, 75(6), 2583. DOI: 10.1063/1.442410.

## English

## Energy Migration in Upconversion Nanocrystals\*

Alla N. Generalova

Shemyakin & Ovchinnikov Institute of  
Bioorganic Chemistry, RAS  
16/10 Miklukho-Maklaya Str.,  
Moscow, 117997, Russia  
angeneralova@gmail.com

Kirill V. Khaydukov

Federal Scientific Research Center  
«Crystallography and Photonics», RAS  
59 Leninsky Ave.,  
Moscow, 119333, Russia  
haidukov\_11@mail.ru

Konstantin E. Mochalov

Shemyakin & Ovchinnikov Institute of  
Bioorganic Chemistry, RAS  
16/10 Miklukho-Maklaya Str.,  
Moscow, 117997, Russia  
mochalov@mail.ru

Roman A. Akasov

Federal Scientific Research Center  
«Crystallography and Photonics», RAS  
59 Leninsky Ave.,  
Moscow, 119333, Russia  
roman.akasov@gmail.com

Valeriia I. Kuzyaeva

Federal Scientific Research Center  
«Crystallography and Photonics», RAS  
59 Leninsky Ave.,  
Moscow, 119333, Russia  
kuzyaeva.valeriya@mail.ru

Vladimir A. Semchishen

Federal Scientific Research Center  
«Crystallography and Photonics», RAS  
59 Leninsky Ave.,  
Moscow, 119333, Russia  
Sem\_47@mail.ru

Polina A. Demina

Federal Scientific Research Center  
«Crystallography and Photonics», RAS  
59 Leninsky Ave.,  
Moscow, 119333, Russia  
Polidemina1207@yandex.ru

Daria O. Solovyeva

Shemyakin & Ovchinnikov Institute of  
Bioorganic Chemistry, RAS  
16/10 Miklukho-Maklaya Str.,  
Moscow, 117997, Russia  
d.solovieva@mail.ru

Evgeny V. Khaydukov

Federal Scientific Research Center  
«Crystallography and Photonics», RAS  
59 Leninsky Ave.,  
Moscow, 119333, Russia  
khaydukov@mail.ru

### Abstract

The processes of energy migration in upconversion nanocrystals (UCNPs) governing the quantum efficiency under pulse excitation at 975 nm, which is a decisive factor for the widespread use of UCNPs, have been studied. The treatment by picosecond laser radiation leads to a controlled nanotransformation of a three-dimensional luminescent structure into a one-dimensional one through the formation of particles with a structure resembling a “medusa”. The upconversion process in the one-dimensional structure occurs due to the energy migration between  $\text{Yb}^{3+}$ , as in the case of nanoparticles. An approach is proposed for evaluating the efficiency of nonradiative energy transfer in a complex of UCNPs with a fluorophore. It takes into account the contribution of energy migration between sensitizer ions. The use of UCNPs in photothermal therapy is shown to be promising due to the large absorption cross section of the  $\text{Yb}^{3+}$  sensitizer. The cellular response to hyperthermia involving UCNPs is demonstrated by measuring heat shock protein expression.

**Keywords:** upconversion nanocrystals, photoluminescence, upconversion, nonradiative energy transfer, one-dimensional structures, photothermal therapy.

\*The work was financially supported by RFBR (project 18-29-20064).

### Images & Tables

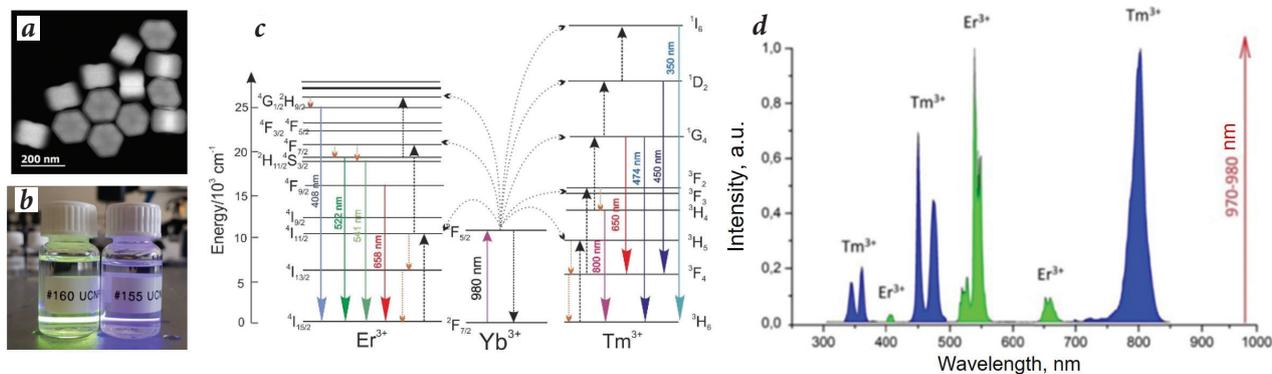
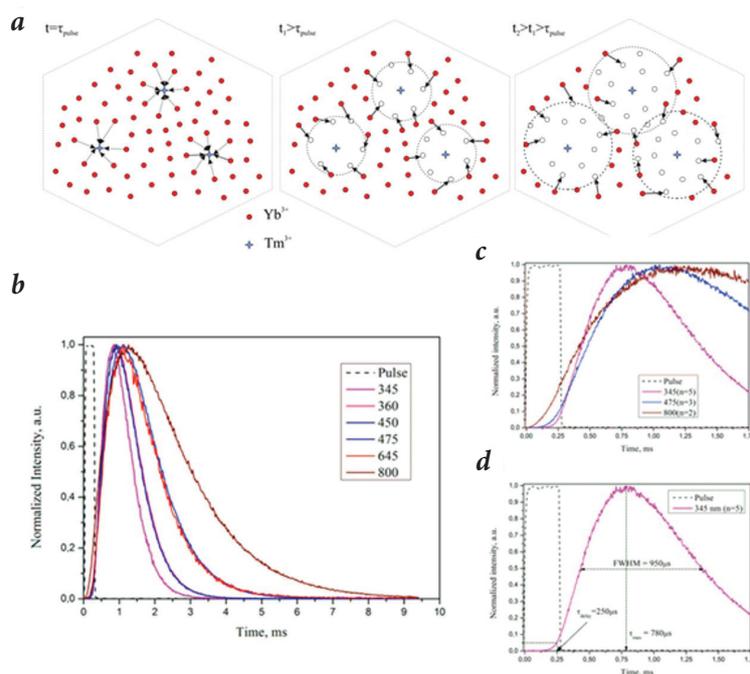
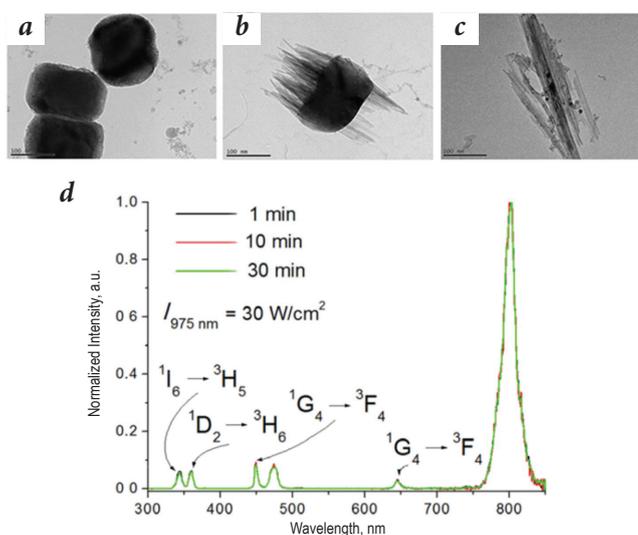


Fig. 1. a – TEM image of upconversion nanoparticles (UCNPs); b – photograph of UCNP dispersion in hexane, the photoluminescence of UCNPs is visualized in laser beam at a wavelength of 975 nm; c – energy level diagram for the  $\text{Yb}^{3+}$ – $\text{Er}^{3+}$  and  $\text{Yb}^{3+}$ – $\text{Tm}^{3+}$  sensitizer/activator pairs exhibiting the upconversion mechanism; d – characteristic fluorescence spectra of  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  and  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$  UCNPs upon excitation by laser radiation at a wavelength of 970–980 nm.



**Fig. 2.** a – Scheme of energy migration in a nanocrystal, demonstrating the redistribution of energy in the vicinity of  $Tm^{3+}$  (indicated by blue asterisks) after the excitation pulse action. At the time  $t = \tau_{pulse}$  (corresponding to the end of excitation pulse) all  $Yb^{3+}$  are in an excited state (indicated by red circles). At the time  $t_1 > \tau_{pulse}$ , a nonradiative energy transfer to  $Tm^{3+}$  from nearby  $Yb^{3+}$  occurs (the area is indicated by a dotted circle), creating a local minimum of the stored energy ( $Yb^{3+}$  in the ground state are indicated by empty circles). At time  $t_2 > t_1 > \tau_{pulse}$  there is an active energy migration between  $Yb^{3+}$ , as a result of which excitation from distant  $Yb^{3+}$  reaches  $Tm^{3+}$  through cross-relaxation. b – Luminescence time dynamics of the thulium ion main transitions at the excitation by a pulse with a duration of  $300 \mu s$  (solid curves) and the time profile of the exciting pulse at a  $975 \text{ nm}$  wavelength (dashed curve); c – luminescence dynamics at  $345 \text{ nm}$ ,  $475 \text{ nm}$ , and  $800 \text{ nm}$  with better temporal resolution to demonstrate significant differences in rise times and peak signals; d – basic parameters of luminescence kinetics at a  $345 \text{ nm}$  wavelength (the beginning of the time scale corresponds to the beginning of the excitation pulse;  $\tau_{delay}$  – the time delay of the signal from the beginning of the excitation pulse;  $\tau_{max}$  – the time to reach the maximum of the fluorescence signal; FWHM – width at half height).



**Fig. 3.** TEM image of UCNP after processing with picosecond laser pulses. Exposure time: 1 (a), 10 (b) and 30 (c) minutes. Fluorescence spectra of UCNP obtained upon excitation by continuous laser radiation ( $975 \text{ nm}$ ) with an intensity of  $30 \text{ W/cm}^2$ ; 1 min – “3D nanoparticles”, 10 min – “jellyfish-like” nanostructures, 30 min – 1D nanoparticles (d).

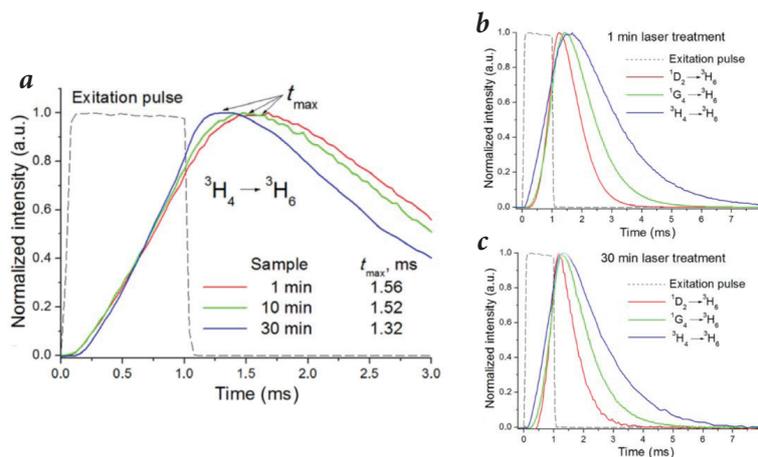


Fig. 4. Kinetics of luminescence (800 nm), demonstrating significant differences in the rise and peak times of nanostructure fluorescence (a). Time dependence of the luminescence of  $Tm^{3+}$  transitions (800 nm – blue, 475 nm – green, 360 nm – red curves) upon pulsed excitation at 975 nm for 3D nanoparticles (b) and 1D nanoparticles (c). The duration of the excitation pulse is 1 ms (dotted line); 1 min – 3D nanoparticles, 10 min – “jellyfish-like” nanostructures, 30 min – 1D nanoparticles. All signals are normalized. The beginning of the time scale corresponds to the beginning of the excitation pulse.

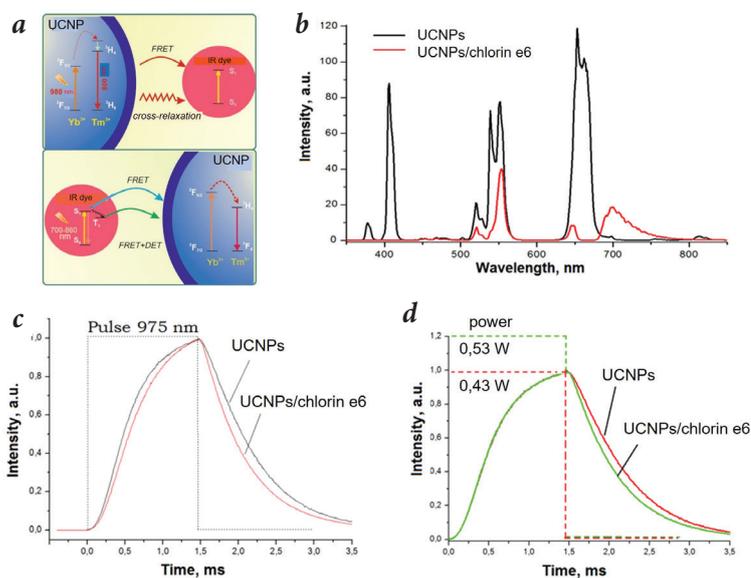
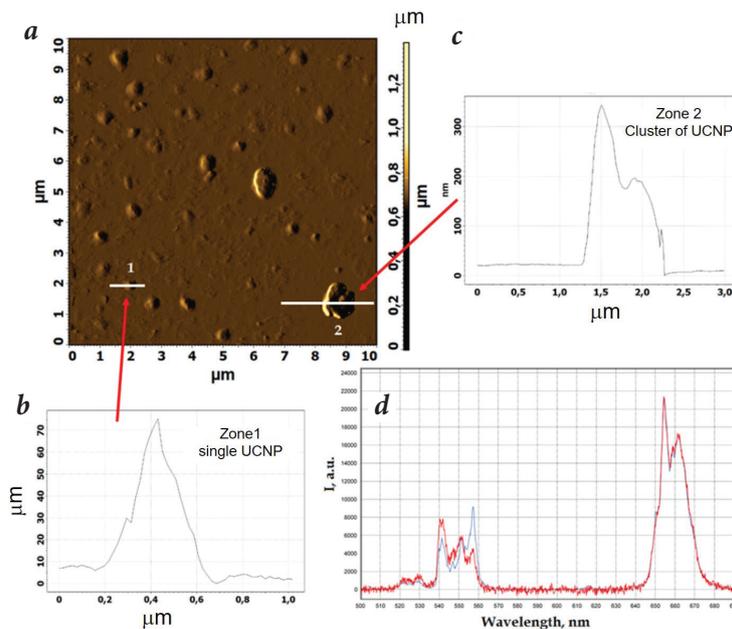
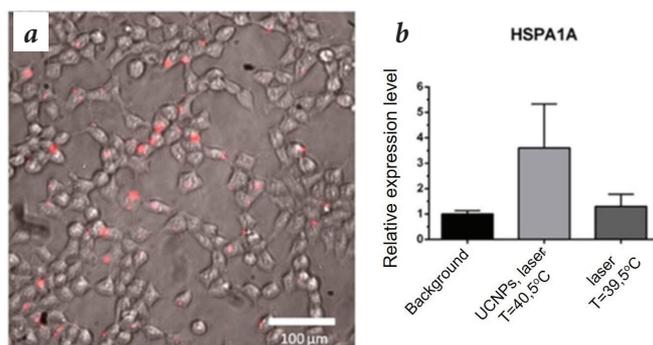


Fig. 5. a – Scheme of energy transfer from UCNPs to fluorophore and in the opposite direction using the UCNP/IR dye complex as an example; b – photoluminescence spectra of UCNPs (black curve) and UCNP/chlorin e6 complex (red curve); c – photoluminescence kinetics of the  $Er^{3+}$  transition at a wavelength of 665 nm in the UCNP/chlorin e6 complex at the equal excitation pulse power and d – at different excitation pulse power, all other conditions were identical. The dotted line indicates the excitation pulse.



**Fig. 6.** AFM image of  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$  nanoparticles and their agglomerates deposited on a glass substrate (a), profiles of the corresponding analysis sections (b, c) and their normalized photoluminescence spectra upon excitation by radiation at a wavelength of 975 nm (d). Red curve – zone 1, signal accumulation time 100 s. Blue curve – zone 2, signal accumulation time 0.1 s. The cluster spectrum is multiplied by a factor of 0.55 to normalize to the 654 nm peak.



**Fig. 7.** a – Accumulation of UCNPs (red dots) in A375 human melanoma cell line; b – expression of HSPA1A in A375 cell line, quantitative PCR analysis: background sample (no UCNPs, no irradiation), sample (0.1 mg/mL UCNPs, irradiation 975 nm), control sample (no UCNPs, irradiation 975 nm).

## References

1. L. Cheng, C. Wang, Z. Liu *Nanoscale*, 2013, 5(1), 23. DOI: 10.1039/c2nr32311g.
2. D. Yang, P. Ma, Z. Hou, Z. Cheng, C. Li, J. Lin *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44(6), 1416. DOI: 10.1039/C4CS00155A.
3. E.V. Khaydukov, V.A. Semchishen, V.N. Seminogov, V.I. Sokolov, A.P. Popov, A.V. Bykov, A.V. Nechaev, A.S. Akhmanov, V.Y. Panchenko, A.V. Zvyagin *Laser Phys. Lett.*, 2014, 11, 095602. DOI:10.1088/1612-2011/11/9/095602.
4. J. Shan, Y. Ju *Nanotechnology*, 2009, 20(27), 275603. DOI: 10.1088/0957-4484/20/27/275603.
5. A. Nadort, J. Zhao, E.M. Goldys *Nanoscale*, 2016, 8(27) 13099. DOI: 10.1039/c5nr08477f.
6. A.N. Generalova, B.N. Chichkov, E.V. Khaydukov *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2017, 245, 1. DOI: 10.1016/j.cis.2017.05.006.
7. C.T. Xu, Q. Zhan, H. Liu, G. Somesfalean, J. Qian, S. He, S. Andersson-Engels *Laser Photon.*, 2013, 7(5), 663. DOI: 10.1002/lpor.201200052.
8. M. Haase, H. Schäfer *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2011, 50(26), 5808. DOI: 10.1002/anie.201005159.
9. D.T. Klier, M.U. Kumke *J. Mater. Chem. C*, 2015, 3(42), 11228. DOI: 10.1039/c5tc02218e.
10. A.I. Burshtein *Soviet Physics JETP*, 1972, 35(5), 882.
11. J.G. Solé, L. Bausá, D. Jaque *An Introduction to the Optical Spectroscopy of Inorganic Solids*, UK, Chichester, Wiley, 2005, 304 pp.
12. P. Villanueva-Delgado, K.W. Krämer, R. Valiente *J. Phys. Chem. C*, 2015, 119(41), 23648. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b06770.
13. S. Alyatkin, I. Asharchuk, K. Khaydukov, A. Nechaev, O. Lebedev, Y. Vainer, V. Semchishen, E. Khaydukov *Nanotechnology*, 2017, 28(3), 035401. DOI: 10.1088/1361-6528/28/3/035401.
14. A.N. Generalova, V.A. Oleinikov, E.V. Khaydukov *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2021, 297, 102543. DOI: 10.1016/j.cis.2021.102543.
15. L. Sajti, D.N. Karimov, V.V. Rocheva, N.A. Arkharova, K.V. Khaydukov, O.I. Lebedev, A.E. Voloshin, A.N. Generalova, B.N. Chichkov, E.V. Khaydukov *Nano Res.*, 2021, 14, 1141. DOI: 10.1007/s12274-020-3163-4.
16. S. Lu, J. Ke, X. Li, D. Tu, X. Chen *Aggregate*, 2021, 2, e137. DOI: 10.1002/agt2.137.
17. X. Zou, M. Xu, W. Yuan, Q. Wang, Y. Shi, W. Feng, F. Li *Chem. Commun.*, 2016, 52(91), 13389. DOI: 10.1039/C6CC07180E.
18. A.K. Woźniak, G.F. Schröder, H. Grubmüller, C.A.M. Seidel, F. Oesterhelt *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, 105(47), 18337. DOI: 10.1073/pnas.0800977105.
19. T. Heyduk *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2002, 13(4), 292. DOI: 10.1016/s0958-1669(02)00332-4.
20. C. Du, H. Wang, F. Yang, P.C. Hammel *Phys. Rev. B*, 2014, 90(14), 140407. DOI: 10.1103/PhysRevB.90.140407.
21. K.E. Mochalov, A.E. Efimov, A. Bobrovsky, I.I. Agapov, A.A. Chistyakov, V.A. Oleinikov, A. Sukhanova, I. Nabiev *ACS Nano*, 2013, 7(10), 8953. DOI: 10.1021/nn403448p.
22. A. Jordan, P. Wust, H. Föhling, W. John, A. Hinz, R. Felix *Int. J. Hyperth.*, 2009, 25(7), 499. DOI: 10.3109/02656730903287790.
23. X. Zhu, W. Feng, J. Chang, Y-W. Tan, J. Li, M. Chen, Y. Sun, F. Li *Nat. Commun.*, 2016, 7, 10437. DOI: 10.1038/ncomms10437.
24. L. Cheng, K. Yang, Y. Li, J. Chen, C. Wang, M. Shao, S-T. Lee, Z. Liu *Angew. Chemie Int. Ed.*, 2011, 50(32), 7385. DOI: 10.1002/anie.201101447.
25. A. Gulzar, J. Xu, D. Yang, L. Xu, F. He, S. Gai, P. Yang *Dalt. Trans.*, 2018, 47(11), 3931. DOI: 10.1039/c7dt04141a.
26. J.R. Melamed, R.S. Edelstein, E.S. Day *ACS Nano*, 2015, 9(1), 6. DOI: 10.1021/acsnano.5b00021.
27. J. Wu, T. Liu, Z. Rios, Q. Mei, X. Lin, S. Cao *Trends Pharmacol. Sci.* 2017, 38(3), 226. DOI: 10.1016/j.tips.2016.11.009.
28. D. Lanneau, M. Brunet, E. Frisan, E. Solary, M. Fontenay, C. Garrido *J. Cell. Mol. Med.*, 2008, 12(3), 743. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00273.x.
29. I.V. Krylov, R.A. Akasov, V.V. Rocheva, N.V. Sholina, D.A. Khochenkov, A.V.Nechaev, N.V. Melnikova, A.A. Dmitriev, A.V. Ivanov, A.N. Generalova, E.V. Khaydukov *Front. Chem.*, 2020, 8, 895. DOI: 10.3389/fchem.2020.00295.
30. R. Paschotta, J. Nilsson, A.C. Tropper, D.C. Hanna *IEEE J. Quantum Electron.*, 1997, 33(7), 1049. DOI: 10.1109/3.594865.
31. A.A. Kaminskii, N.R. Agamalyan, G.A. Deniseneo, S.E. Sarkisov, P.P. Fedorov *Phys. Stat. So. (a)*, 1982, 70(2), 397. DOI: 10.1002/pssa.2210700206.
32. L. Esterowitz, F.J. Bartoli, R.E. Allen *J. Lumin.*, 1979, 21(1), 1. DOI: 10.1016/0022-2313(79)90030-9.
33. A.A.S. da Gama, G.F. de Sá, P. Porcher, P. Caro *J. Chem. Phys.*, 1981, 75(6), 2583. DOI: 10.1063/1.442410.