

## Гидрогели с контролируруемыми флуоресцентными свойствами на основе квантовых точек и диаминовых производных полиэтиленгликоля

© Е.С. Герасимович<sup>1</sup>, А.А. Кныш<sup>1</sup>, П.С. Самохвалов<sup>1</sup>, А.В. Суханова<sup>2</sup>, И.Р. Набиев<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория нано-биоинженерии, Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ (Московский инженерно-физический институт), 115409 Москва, Россия

<sup>2</sup> Laboratoire de Recherche en Nanosciences, LRN-EA4682, Université de Reims Champagne-Ardenne, 51100 Reims, France

\*e-mail: igor.nabiev@gmail.com

Поступила в редакцию 19.10.2023 г.

В окончательной редакции 19.10.2023 г.

Принята к публикации 25.10.2023 г.

Гидрогели представляют собой трехмерные гидрофильные полимерные структуры, полученные с помощью химических сшивок или физического связывания. Флуоресцентные гидрогели на основе полупроводниковых нанокристаллов, или квантовых точек (КТ), вызывают большой интерес в связи с потенциалом их использования в биоаналитических, биосенсорных и микрофлюидных приложениях. В настоящей работе разработан подход к получению флуоресцентных гелей с помощью гетеробифункционального кросс-линкера из водорастворимых КТ CdSe/ZnS (ядро/оболочка), поверхность которых функционализирована цистеином, и диаминовых производных полиэтиленгликоля (ПЭГ) различной длины. Структура полученных гелей охарактеризована с помощью световой, флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии в сравнении с гелями, полученными с помощью добавления двухвалентных катионов. Проведен сравнительный анализ спектральных характеристик и квантового выхода флуоресценции полученных образцов гелей различной структуры и морфологии. Установлено, что пористость и оптические свойства полученных гелей можно контролировать путем подбора ПЭГ-линкеров различной длины, использованных для химического гелеобразования.

**Ключевые слова:** флуоресцентные гидрогели, нанокристаллы, квантовые точки.

DOI: 10.61011/OS.2023.11.57031.5698-23

### Введение

Гидрогели на основе флуоресцентных квантовых точек (КТ) являются перспективными материалами, применяемыми в таких областях, как катализ, при создании сенсоров [1], светодиодов [2], в системах направленной доставки лекарств, микрофлюидике и биоимиджинге [3]. Полупроводниковые КТ обладают рядом уникальных оптических свойств, таких как зависимость длины волны испускания флуоресценции от размера наночастиц, квазинепрерывный спектр поглощения и высокий квантовый выход (КВ) флуоресценции.

Неорганические гидрогели на основе КТ обладают уникальными свойствами отдельных нанокристаллов и могут проявлять контролируемые характеристики, связанные со структурой и морфологией гидрогеля. К методам получения гидрогелей из КТ относятся контролируемая дестабилизация нанокристаллов [4], их прямое связывание с помощью макромолекул-линкеров [5] либо посредством координационных [6] или ковалентных связей [7]. Одним из наиболее распространённых методов гелеобразования является добавление к нанокристаллам двух- и трёхвалентных катионов [8,9]. Использование метода контролируемой дестабилизации приводит к по-

лучению стабильных гелей, однако их структуру сложно контролировать, и она может необратимо меняться со временем, в то время как использование органических молекул-линкеров, взаимодействующих с нанокристаллами, позволяет контролировать расстояние между ними и морфологию создаваемых структур, что существенно расширяет области их применения [10].

Создание композитных материалов, состоящих из полимерной матрицы и флуоресцентных КТ, является важным направлением в биологических и диагностических исследованиях в связи с возможностью их применения для создания сенсоров и биовизуализации [11]. При этом включение КТ в структуру гидрогелей обеспечивает механическую и химическую стабильность КТ, а наличие КТ в составе гидрогелей улучшает их структуру и делает их оптически активными. Пористая структура и большая площадь поверхности гидрогелей позволяют им вмещать значительное количество наночастиц, предотвращая их агрегацию и повышая стабильность флуоресцентного сигнала [12].

Среди известных методов получения композитных гидрогелей следует отметить внедрение КТ в поры предварительно сформированной полимерной матрицы,

формирование геля с использованием КТ как структурных элементов, наряду с полимером, а также прямой химический синтез КТ из предшественников в предварительно сформированной полимерной матрице [12]. Ранее была показана возможность применения гидрогелей, состоящих из КТ и наночастиц целлюлозы, для разработки высокочувствительного биосенсора для детекции глутатиона в образцах сыворотки крови человека [13].

В настоящей работе разработан метод одностадийного получения флуоресцентных гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS (ядро/оболочка), функционализированных цистеином, с использованием линкерных молекул на основе диаминовых производных полиэтиленгликоля (ПЭГ) различной длины и продемонстрирована возможность контроля оптических свойств гидрогеля за счет варьирования его пористости и морфологии в зависимости от длины (молекулярной массы) используемых производных ПЭГ.

## Материалы и методы

### Синтез КТ CdSe/ZnS (ядро/оболочка)

Синтез КТ CdSe/ZnS осуществляли посредством одностадийного, так называемого „безфосфинного“ коллоидного синтеза [14]. Перед проведением синтеза ядер CdSe готовили раствор прекурсора селена (0.4 М), для чего навеску порошка селена помещали в двухгорлую колбу, добавляли к ней 16 ml 1-октадецена (ОДЕ), из колбы удаляли остатки кислорода кратковременным вакуумированием системы при 120°C, после чего в токе аргона смесь медленно разогревали до 200°C в течение 1.5 h. В результате этой реакции получали раствор элементарного селена в ОДЕ, имеющий интенсивную коричневую окраску, который использовали далее для получения ядер CdSe.

Ядра КТ синтезировали следующим образом. В трехгорлую колбу на 50 ml помещали 128 mg оксида кадмия, 1080 ml олеиновой кислоты и 16 ml ОДЕ. Указанную смесь нагревали в токе аргона до 180°C и выдерживали до полного растворения оксида кадмия с образованием раствора, имеющего слабую желтую окраску. Далее реакционную смесь охлаждали до 120°C и выдерживали под вакуумом в течение 30 min для удаления остатков выделенной в предыдущей реакции воды. Далее вакуумирование отключали и смесь разогревали до 270°C в токе аргона. По достижении этой температуры в колбу производили резкий впрыск 0.8 ml раствора прекурсора селена. После впрыска температуру реакционной среды выдерживали у значения 250°C и по истечении 5 min охлаждали до 60°C в токе аргона. При этой температуре в колбу, в токе аргона, вводили 20 ml метанола, и в течение 10 min образовавшуюся эмульсию интенсивно перемешивали. В ходе этой процедуры в фазу метанола переходят остатки непрореагировавшего олеата кадмия, который может образовывать побочные продукты в ходе наращивания оболочки ZnS. По прошествии 10 min

эмульсии давали отстояться до полного расслаивания, после чего верхний слой эмульсии аккуратно удаляли с помощью пипетки. Процедуру очистки реакционной смеси *in situ* повторяли ещё 2 раза, после чего установку герметизировали и удаляли остатки метанола вакуумированием при 60°C. Далее реакционную смесь вакуумировали в течение 25 min при температуре 120°C, после чего проводили наращивание оболочки ZnS по описанной ранее процедуре [15] при 180°C с использованием 2-этилгексаноата цинка и тиомочевины в качестве прекурсоров цинка и серы соответственно. По окончании реакции раствор КТ CdSe/ZnS охлаждали до 80°C в токе аргона, после чего выделяли КТ путем их осаждения при добавлении к раствору двухкратного избытка метилацетата и последующего центрифугирования. После дополнительной очистки продукта методом его перерастворения и осаждения получали очищенные КТ, имеющие на поверхности смесь остатков олеиновой и 2-этилгексановой кислот в качестве поверхностных лигандов. Полученные КТ высушивали в матрице три-*n*-октилфосфин оксида для дальнейшего использования.

### Получение водорастворимых КТ CdSe/Zn, модифицированных цистеином

Навеску в 15 mg КТ CdSe/ZnS в три-*n*-октилфосфин оксиде растворяли в 800  $\mu$ l хлороформа, добавляли 1200  $\mu$ l метанола и центрифугировали 5 min при 14000 rpm. После этого проводили отбор супернатанта и повторяли эту процедуру ещё два раза. Далее растворяли осадок КТ в 800  $\mu$ l хлороформа, добавляли 300  $\mu$ l раствора DL-цистеина (Sigma Aldrich) в метаноле с концентрацией полиэтиленгликоля 10 mg/ml и центрифугировали полученную смесь 10 min при 14000 rpm. Супернатант отбирали и выбрасывали, проводя таким образом три отмывки осадка в 2000  $\mu$ l метанола при его центрифугировании в течение 3 min при 14000 rpm. Далее тщательно отбирали супернатант и удаляли остатки растворителя путём высушивания его в вакуумном концентраторе Concentrator Plus (Eppendorf). Затем к осадку добавляли 700  $\mu$ l 0.1 М раствора NaOH при интенсивном перемешивании. Полученную смесь обрабатывали ультразвуком на водяной бане в течение 10 min, после чего ее центрифугировали 10 min при 8000 rpm. Полученный раствор КТ, модифицированных цистеином, переводили в 0.05 М боратный буфер (pH 9.5) с помощью хроматографической колонки с Сефадекс G-25, уравновешенной соответствующим буферным раствором.

### Разработка метода получения гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля

Для получения гелей, состоящих из КТ, модифицированных цистеином, и линкерных молекул

**Таблица 1.** Схема приготовления образцов гидрогелей из КТ с использованием диаминовых производных и при добавлении двухвалентных катионов

Образец	Молярные соотношения			Объём добавления в реакционную смесь, $\mu\text{l}$					
	EDC/КТ	NHS/EDC	ПЭГ/КТ	КТ	EDC	NHS	0.05 М MES pH 6.0	ПЭГ	0.1 М $\text{MgCl}_2$
1 — КТ+0.05 М MES, pH 6.0	0	0	0	100.0	0.0	0.0	200.0	0.0	0.0
2 — КТ+ПЭГ2000+ 0.05 М MES, pH 6.0	0	0	1000	100.0	0.0	0.0	100.0	100.0	0.0
3 — КТ+ПЭГ2000+ EDC + s-NHS (2 стадии)	1000 5000	0 10	1000 0	100.0 100.0	50.0 5.0	50.0 5.0	0.0 0.0	100.0 0.0	0.0 0.0
4 — КТ+ПЭГ2000+EDC + s-NHS (1 стадия)	5000	10	1000	100.0	50.0	50.0	0.0	100.0	0.0
5 — КТ+ $\text{MgCl}_2$	0	0	0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	200.0

(ПЭГ), содержащих две аминогруппы, использовали реакцию конъюгирования с помощью 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодимид (EDC) в присутствии N-гидроксисукцинимид (NHS) в двух модификациях: одностадийная реакция [16] и двухстадийная реакция, эффективность которой была показана при конъюгировании макрокомплексов биомолекул [17]. В качестве исходного раствора КТ использовали раствор КТ CdSe/ZnS, модифицированных цистеином (далее CdSe/ZnS-Cys), в 0.05 М боратном буфере (pH 8.5). В качестве линкерной молекулы использовали диаминовое производное полиэтиленгликоля со средней молекулярной массой 2000 g/mol (poly(ethylene glycol) diamine, Sigma-Aldrich, кат. № 753084), далее ПЭГ2000. Готовили опытные образцы путём добавления к 100  $\mu\text{l}$  раствора КТ (CdSe/ZnS-Cys) растворов EDC, NHS и ПЭГ в буфере 0.05 М MES (pH 6.0) для достижения молярных соотношений, указанных в табл. 1. В образец 4 повторно добавляли растворы EDC и NHS в воде через 1 h инкубации при 25°C. В качестве контрольных образцов использовали раствор КТ CdSe/ZnS-Cys с добавлением буфера 0.05 М MES (pH 6.0) в объёме, эквивалентном объёму EDC, NHS и ПЭГ, добавляемому в опытные образцы, а также раствор КТ с добавлением ПЭГ и буфера 0.05 М MES (pH 6.0) в объёме, эквивалентном объёму EDC, NHS в опытных образцах.

Для сравнения разрабатываемого метода с известным ранее методом гелеобразования при добавлении двухвалентных катионов также готовили образец из КТ с добавлением 0.1 М  $\text{MgCl}_2$ . Все образцы инкубировали в течение 24 h при 25°C в темноте. После инкубации отбирали супернатант и добавляли 200  $\mu\text{l}$  воды для отмывки гелей. Через 1 h повторно отбирали супернатант и проводили анализ полученных гелей.

#### Определение стабильности гелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля и двухвалентных катионов

Для оценки стабильности гелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученных с использованием диамино-ПЭГ, образцы 3 и 4 (табл. 1) титровали раствором 0.1 М NaOH до достижения pH, аналогичного pH исходного раствора КТ CdSe/ZnS-Cys (8.5-9.0), всего добавляли по 50  $\mu\text{l}$  0.1 М NaOH. В контрольные образцы 1 и 2 добавляли эквивалентный объём 0.1 М NaOH. Для оценки стабильности гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученных добавлением двухвалентных катионов, к гидрогелю добавляли 200  $\mu\text{l}$  0.1 М этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (pH 8.0) и анализировали состояние образцов сразу после добавления NaOH/ЭДТА и через 24 h после добавления.

#### Сравнение гелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля с разной молекулярной массой

Для определения влияния молекулярной массы и, как следствие, размера линкерных молекул на структуру получаемых гидрогелей на основе КТ использовали диаминовые производные полиэтиленгликоля со средней молекулярной массой 400, 2000 и 3400 g/mol (poly(ethylene glycol) diamine, average Mn 400, Sigma-Aldrich, кат. № 909149; poly(ethylene glycol) diamine, average Mn 2000, Sigma-Aldrich, кат. № 753084; poly(ethylene glycol) bis(amine), average Mn 3400, Sigma-Aldrich, кат. № P9906), далее ПЭГ400, ПЭГ2000 и ПЭГ3400 соответственно. Для приготовления образцов гидрогелей к 100  $\mu\text{l}$  раствора КТ CdSe/ZnS-Cys в 0.05 М боратном буфере (pH 8.5) добавляли EDC, s-NHS и

одно из производных ПЭГ для достижения оптимальных молярных соотношений, определённых в предыдущем эксперименте (EDC/КТ — 5000/1, NHS/EDC — 10/1, ПЭГ/КТ — 1000/1, одна стадия). Смесь инкубировали в течение 24 h при 25°C в темноте, после инкубации проводили отмывку осадка так, как описано в предыдущем разделе, после чего проводили анализ структуры гидрогелей.

### **Анализ гидрогелей на основе КТ, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля и двухвалентных катионов, методами световой и флуоресцентной микроскопии**

Образцы гидрогелей после отмывки наносили в объёме 12.5  $\mu\text{l}$  на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и анализировали с использованием микроскопа Axio Observer 3 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) в режиме световой и флуоресцентной микроскопии с использованием 20 $\times$  и 100 $\times$  объективов. Для работы с иммерсионным объективом (100 $\times$ ) использовали иммерсионное масло Immersol 518F (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия). Для флуоресцентной микроскопии использовали набор фильтров XF 115-2 FITC-long pass, состоящий из фильтра возбуждения 475AF40, дихроичного фильтра 505DRLP и эмиссионного фильтра 510ALP. Для получения микрофотографий использовали программное обеспечение Zeiss Zen, версия 2.3, для обработки изображений использовали программное обеспечение Fiji (Image J), версия 1.52.

### **Анализ гидрогелей на основе КТ, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля и с использованием двухвалентных катионов, методом сканирующей электронной микроскопии**

Образцы для сканирующей электронной микроскопии готовили путем помещения 1  $\mu\text{l}$  гидрогеля, разведённого в 10 раз, на подложку из пористого кремния, и его высушивания в течение 48 h. Анализ образцов проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа MAIA3 (Tescan, Чехия) с напряжением 5 kV. Для обработки изображений использовали программное обеспечение Fiji (Image J), версия 1.52.

### **Сравнение КВ флуоресценции гидрогелей на основе КТ, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля с разной молекулярной массой и с использованием двухвалентных катионов**

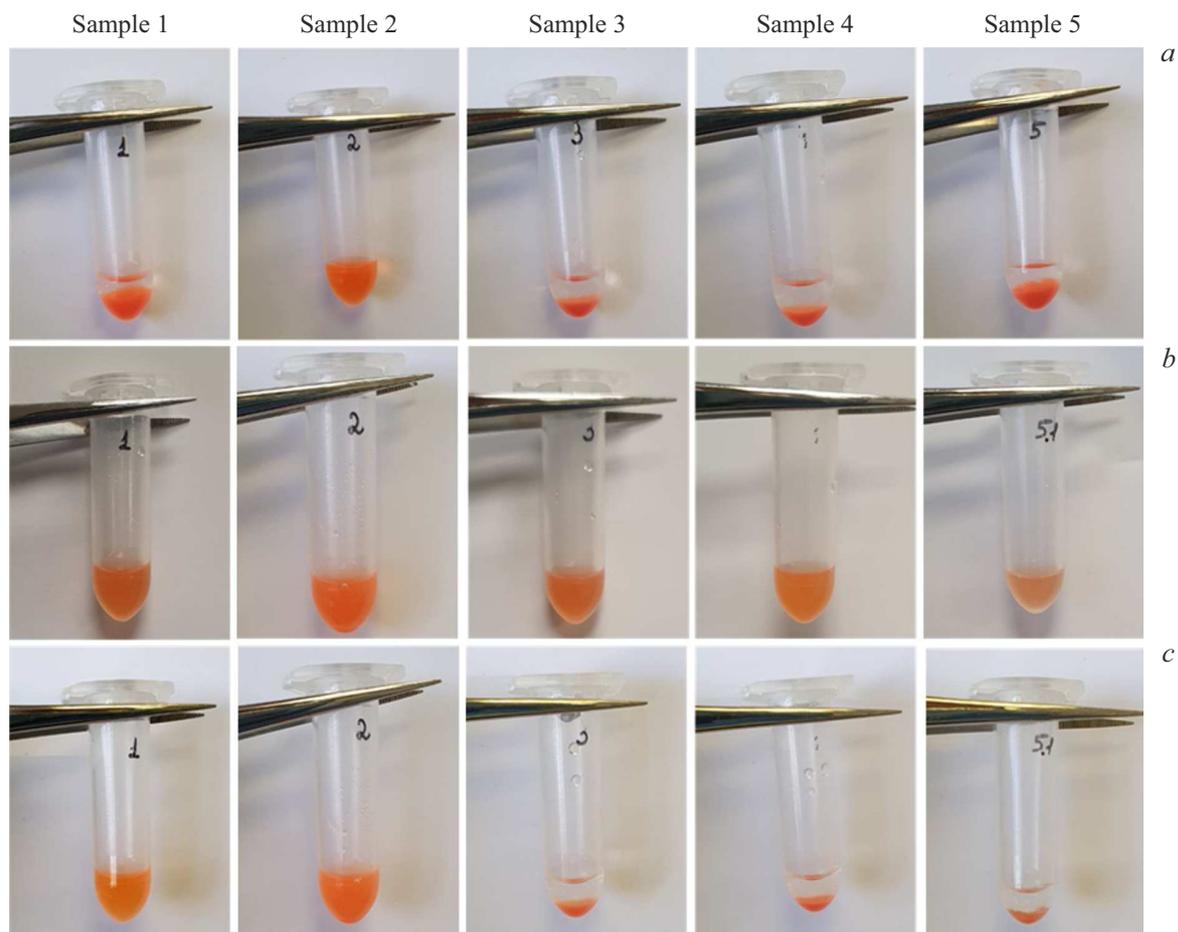
Измерение спектров флуоресценции КТ и гидрогелей на основе КТ, полученных с использованием диамино-ПЭГ с разной молекулярной массой, проводили с использованием спектрофлуориметра Cary Eclipse

(Agilent), оборудованного волоконно-оптическим зондом. Для этого на покровное стекло наносили 12.5  $\mu\text{l}$  заранее подготовленного геля из КТ и выжидали 15 min, чтобы увеличить вязкость образца. Значение КВ флуоресценции изготовленных образцов измеряли с использованием интегрирующей сферы [18]. Образец помещали непосредственно в интегрирующую сферу на линии лазерного луча. При измерении КВ флуоресценции гидрогелей на основе КТ, полученных с использованием диамино-ПЭГ, источником возбуждающего излучения служил полупроводниковый диодный лазер с длиной волны возбуждения 398 nm (Taiko PDL M1 (PicoQuant)). Измерения проводили в импульсном режиме (100 kHz) при средней энергии лазерного пучка 180  $\mu\text{W}$ . Для сбора спектра флуоресценции исследуемого образца к выходному порту сферы подвели оптическое волокно, а также монтировали оптический фильтр для подавления излучения лазера на выходе. Таким образом, оптоволокно переносило излучение только от образца, спектр которого накапливался портативным спектрометром Ocean Optics HR2000 + ES.

## **Результаты и обсуждение**

### **Разработка оптимального метода получения гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys и диаминовых производных полиэтиленгликоля**

При добавлении к раствору КТ CdSe/ZnS-Cys, содержащему диамино-ПЭГ со средней молекулярной массой 2000 g/mol, 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодимида (EDC) и N-гидроксисукцинимидом (NHS) наблюдали формирование гидрогелей (рис. 1, образцы № 3 и 4). При добавлении к раствору КТ CdSe/ZnS-Cys двухвалентных катионов по ранее разработанному методу [8] также происходило формирование гидрогеля (рис. 1, образец № 5). Анализ микрофотографий образцов гидрогелей № 3, № 4 и № 5 (рис. 2) показал наличие упорядоченных структур, состоящих из КТ CdSe/ZnS-Cys, причём в образцах гидрогелей, полученных с использованием диаминовых производных ПЭГ, структуры были заметно плотнее (образцы № 3 и № 4), чем структуры в образце геля, полученного при добавлении  $\text{MgCl}_2$  (образец № 5). В контрольном образце № 1 при добавлении буфера 0.05 MES (pH 6.0) в объёме, эквивалентном объёму добавляемых растворов EDC, NHS и ПЭГ, наблюдали формирование осадка КТ, что связано с понижением pH реакционной среды при добавлении этого буфера к раствору КТ в 0.05 M боратном буфере (pH 8.5). Анализ указанного образца с помощью оптической микроскопии продемонстрировал наличие в нём неупорядоченных структур, вероятно соответствующих агрегатам КТ. В контрольном образце 2 образование геля или осадка не происходило, в связи с чем микрофотографии для данного образца не представлены.



**Рис. 1.** Фотографии контрольных образцов КТ CdSe/ZnS-Cys с добавлением 0.05 М MES, pH 6.0 (Sample 1) и диамино-ПЭГ (Sample 2) и образцов гелей, полученных из КТ CdSe/ZnS-Cys с использованием диамино-ПЭГ (Sample 3 — в 2 стадии, Sample 4 — в 1 стадию) и двухвалентных катионов (Sample 5) через 24 h инкубации (панель *a*), после добавления 0.1 М NaOH (Sample 1, 3, 4) или 0.1 М ЭДТА (Sample 5) (панель *b*) и через 24 h после добавления (панель *c*).

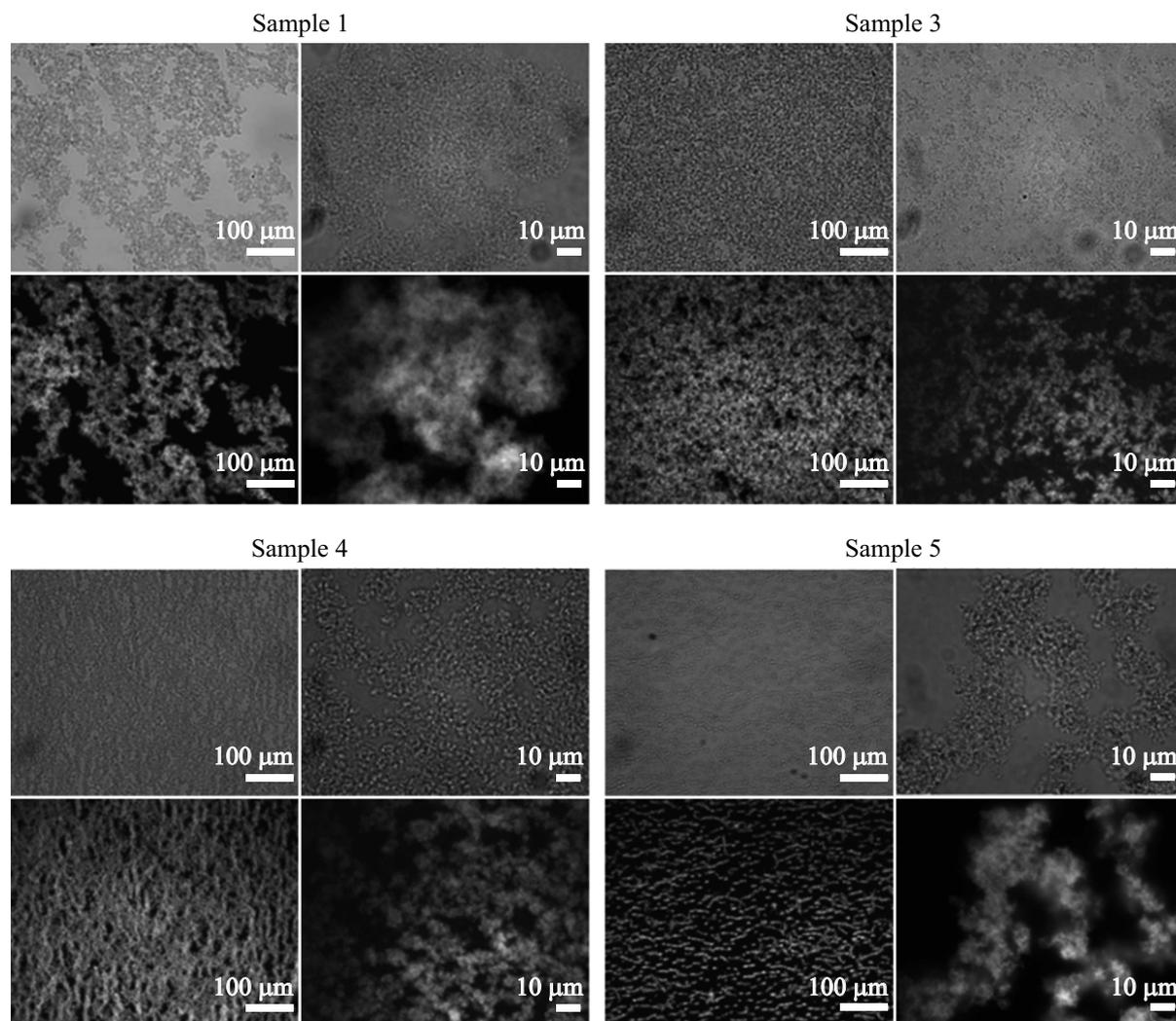
**Таблица 2.** Спектральные характеристики и КВ флуоресценции в растворе КТ CdSe/ZnS-Cys и в образцах гидрогелей из этих нанокристаллов, полученных с использованием диаминовых производных ПЭГ с различной молекулярной массой и MgCl<sub>2</sub>

Образец	КВ флуоресценции, %	Максимум длины волны флуоресценции, nm	Полная ширина на уровне половины высоты или ширина, nm
КТ CdSe/ZnS-Cys	35.0	595	29.7
Гель КТ + ПЭГ3400	17.1	599	31.1
Гель КТ + ПЭГ2000	25.0	599	0.7
Гель КТ + ПЭГ400	22.8	601	30.4
Гель из КТ + MgCl <sub>2</sub>	17.2	601	31.3

Представленные данные показывают, что нами разработан метод получения гидрогелей, состоящих из КТ CdSe/ZnS-Cys и диамино-ПЭГ, с применением карбодимидной реакции в одну или две стадии. Сравнение гелей, полученных с использованием описанного метода, с гелем, полученным при добавлении двухвалентных катионов, показывает их более плотную структуру,

что можно объяснить образованием ковалентных связей между линкерными молекулами (ПЭГ) и лигандами на поверхности КТ CdSe/ZnS-Cys.

Для оценки стабильности гелей при повышении pH до значения, близкого к pH исходного раствора КТ (8.5–9.0), добавляли 50 μl 0.1 М NaOH. В образце № 1 осадок, формирующийся после 24 h инкубации, не имел



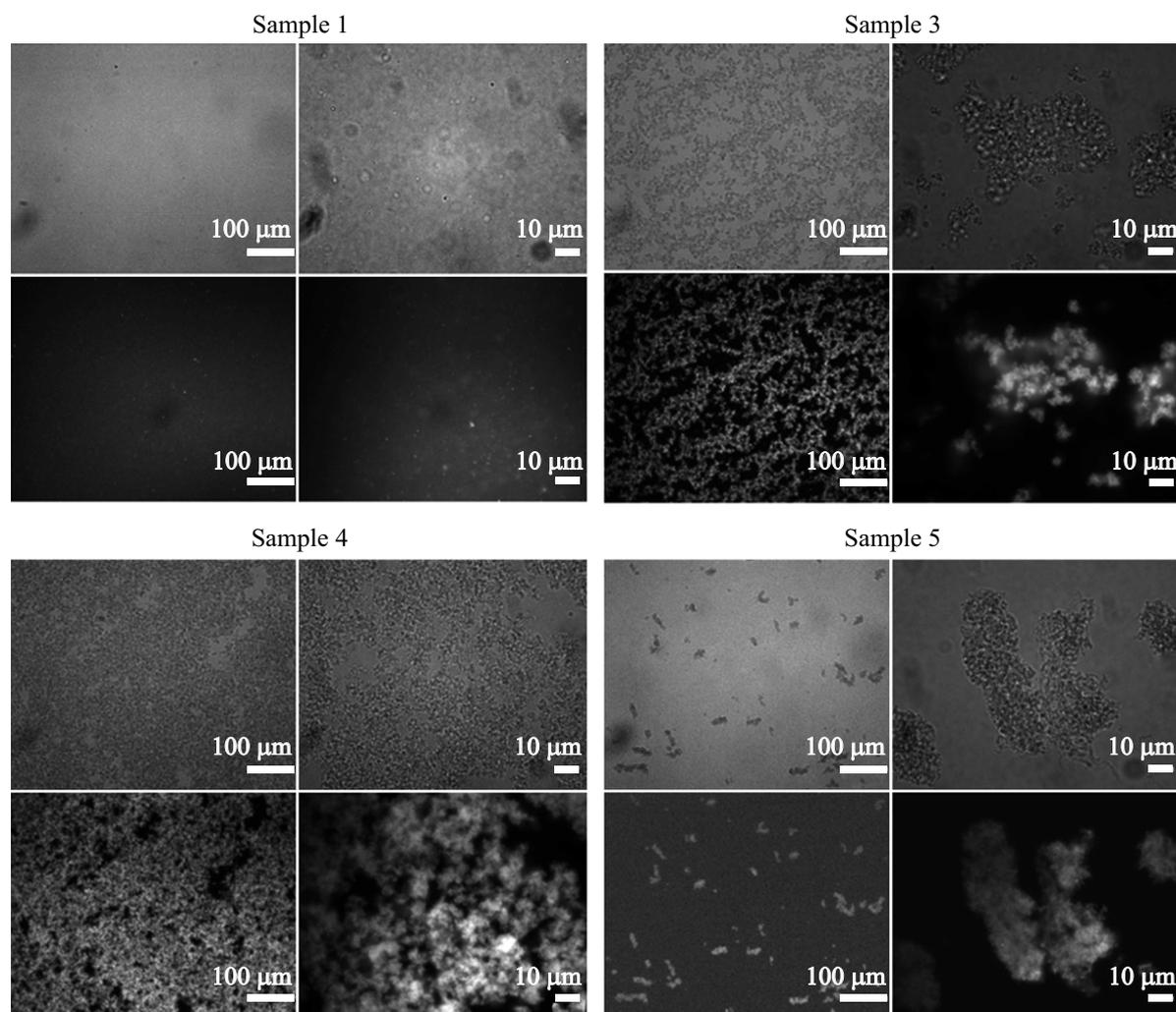
**Рис. 2.** Микрофотографии контрольных образцов КТ CdSe/ZnS-Cys с добавлением 0.05 М MES (pH 6.0, Sample 1) и гидрогелей, полученных из КТ CdSe/ZnS-Cys с использованием диамино-ПЭГ (Sample 3 — в 2 стадии, Sample 4 — в 1 стадии) и двухвалентных катионов (Sample 5) через 24 h инкубации при увеличении 200× и 1000×, полученные с помощью световой (верхняя панель для каждого образца) и флуоресцентной (нижняя панель) микроскопии через 24 h инкубации.

упорядоченной структуры (рис. 2), а при восстановлении исходного pH смеси происходил переход КТ в раствор (рис. 1, *b, c*). Анализ образца № 1 через 24 h после добавления раствора NaOH также показал отсутствие упорядоченных структур (рис. 3). В контрольном образце не наблюдалось изменений при добавлении раствора NaOH. В опытных образцах № 3 и № 4 непосредственно после добавления раствора NaOH наблюдалось ресуспендирование геля, однако после 24 h наблюдалось восстановление исходного геля (рис. 1).

Анализ данных образцов с помощью оптической микроскопии показал наличие упорядоченных структур, причём в образце № 4 выявленные структуры были более плотными, чем в образце № 3 (рис. 3). В образце № 5 после добавления раствора ЭДТА также наблюдалось ресуспендирование геля, а после 24 h формирова-

ние осадка КТ (рис. 1), при анализе которого не были выявлены упорядоченные структуры (рис. 3).

Таким образом, восстановление структуры гелей из КТ, полученных с использованием диамино-ПЭГ, после изменения pH раствора свидетельствует об их прочности за счёт образования ковалентных связей между КТ и линкерными молекулами при проведении карбодимидной реакции. Напротив, образование гелей из КТ при добавлении двухвалентных катионов является обратимым, так как добавление комплексообразователя (ЭДТА) приводит к связыванию двухвалентных катионов и разрушению структуры геля, что согласуется с ранее опубликованными результатами [6]. При этом сравнение образцов № 3 и № 4 показало, что проведение реакции конъюгирования в одну стадию приводит к формированию более плотных и стабильных гелей, в



**Рис. 3.** Микрофотографии контрольных образцов КТ CdSe/ZnS-Cys с добавлением 0.05 М MES (pH 6.0, Sample 1) и гелей, полученных из КТ CdSe/ZnS-Cys с использованием диамино-ПЭГ (Sample 3 — в 2 стадии, Sample 4 — в 1 стадии) через 24 h и двухвалентных катионов (Sample 5) через 24 h после добавления 0.1 М NaOH (Sample 1, 3, 4) или 0.1 М ЭДТА (Sample 5) при увеличении 200× и 1000×, полученные с помощью световой (верхняя панель для каждого образца) и флуоресцентной (нижняя панель) микроскопии.

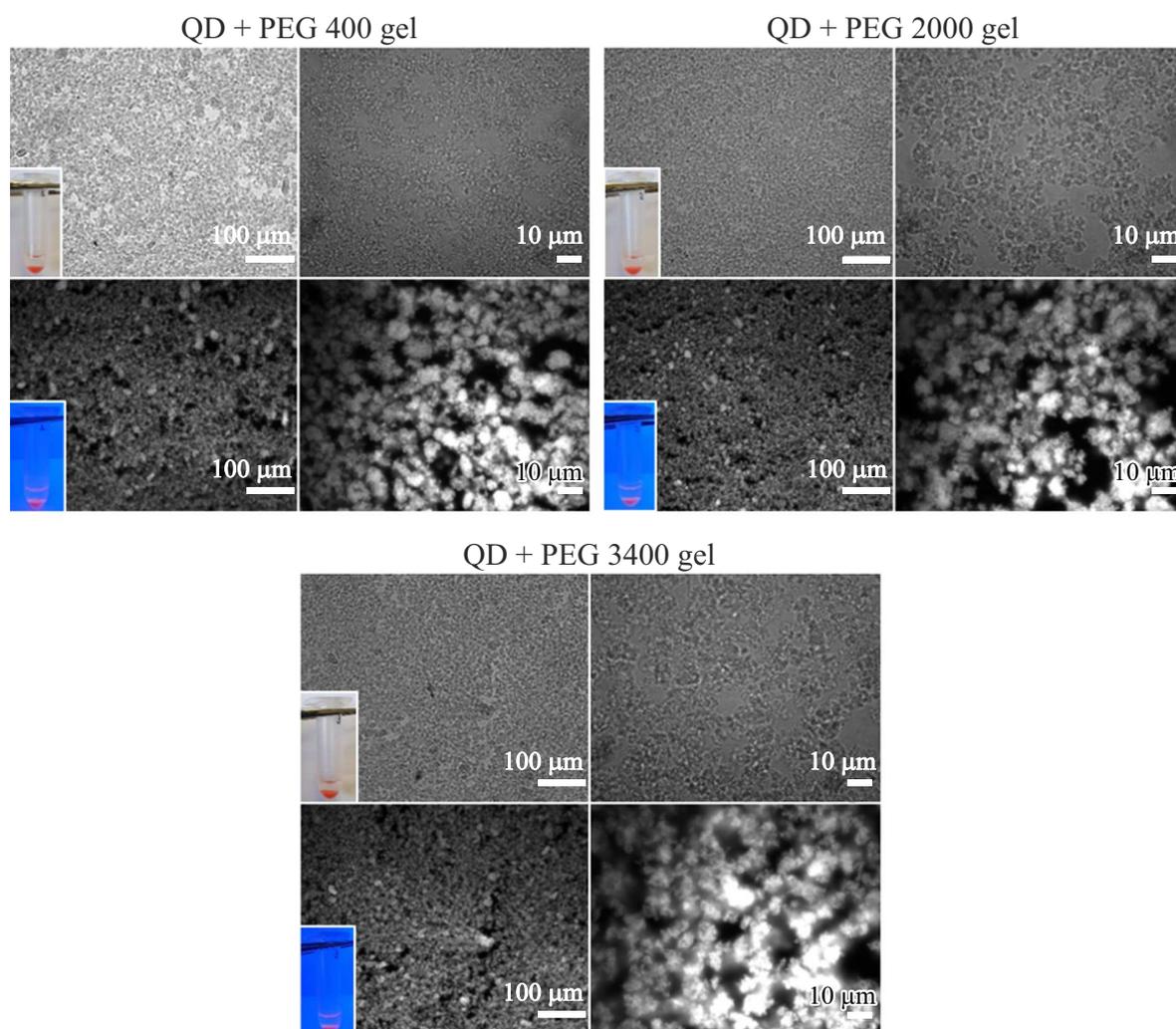
связи с чем данная модификация метода была выбрана для дальнейшей работы.

### Сравнение гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля с разной молекулярной массой

Для сравнения структуры гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, содержащих диамино-ПЭГ с молекулярной массой 400, 2000 или 3400 g/mol, использовали оптимальные соотношения реагентов и условия проведения реакции, установленные в предыдущих экспериментах. Анализ полученных образцов гидрогелей с помощью световой и флуоресцентной микроскопии продемонстрировал наличие упорядоченных структур во всех образцах (рис. 4). Однако при использовании диамино-

ПЭГ с меньшей молекулярной массой образующиеся гидрогели обладали меньшей зернистостью, что может быть связано с формированием более плотных структур при уменьшении длины линкерной молекулы.

Анализ полученных гидрогелей методом сканирующей электронной микроскопии показал, что гидрогели на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученные с использованием диаминовых ПЭГ с разной молекулярной массой, имеют существенные структурные отличия (рис. 5). В гидрогеле из КТ, полученном с использованием ПЭГ с наименьшей молекулярной массой (400 g/mol), были заметны поры значительно меньшего размера, чем в гелях, полученных с использованием ПЭГ с молекулярными массами 2000 и 3400 g/mol. Исходя из анализа микрофотографий, полученных методом СЭМ, гель из КТ CdSe/ZnS-Cys, образовавшийся в результате



**Рис. 4.** Микрофотографии гидрогелей, полученных из КТ CdSe/ZnS-Cys с использованием диамино-ПЭГ с молекулярной массой 400, 2000 и 3400 g/mol, через 24 h инкубации при увеличении  $200\times$  и  $1000\times$ , полученные с помощью световой (верхняя панель для каждого образца) и флуоресцентной (нижняя панель) микроскопии. Во вставках показаны фото гелей при дневном и УФ освещении.

добавления двухвалентных катионов ( $MgCl_2$ ), имел менее упорядоченную структуру, чем гели, полученные с использованием ПЭГ.

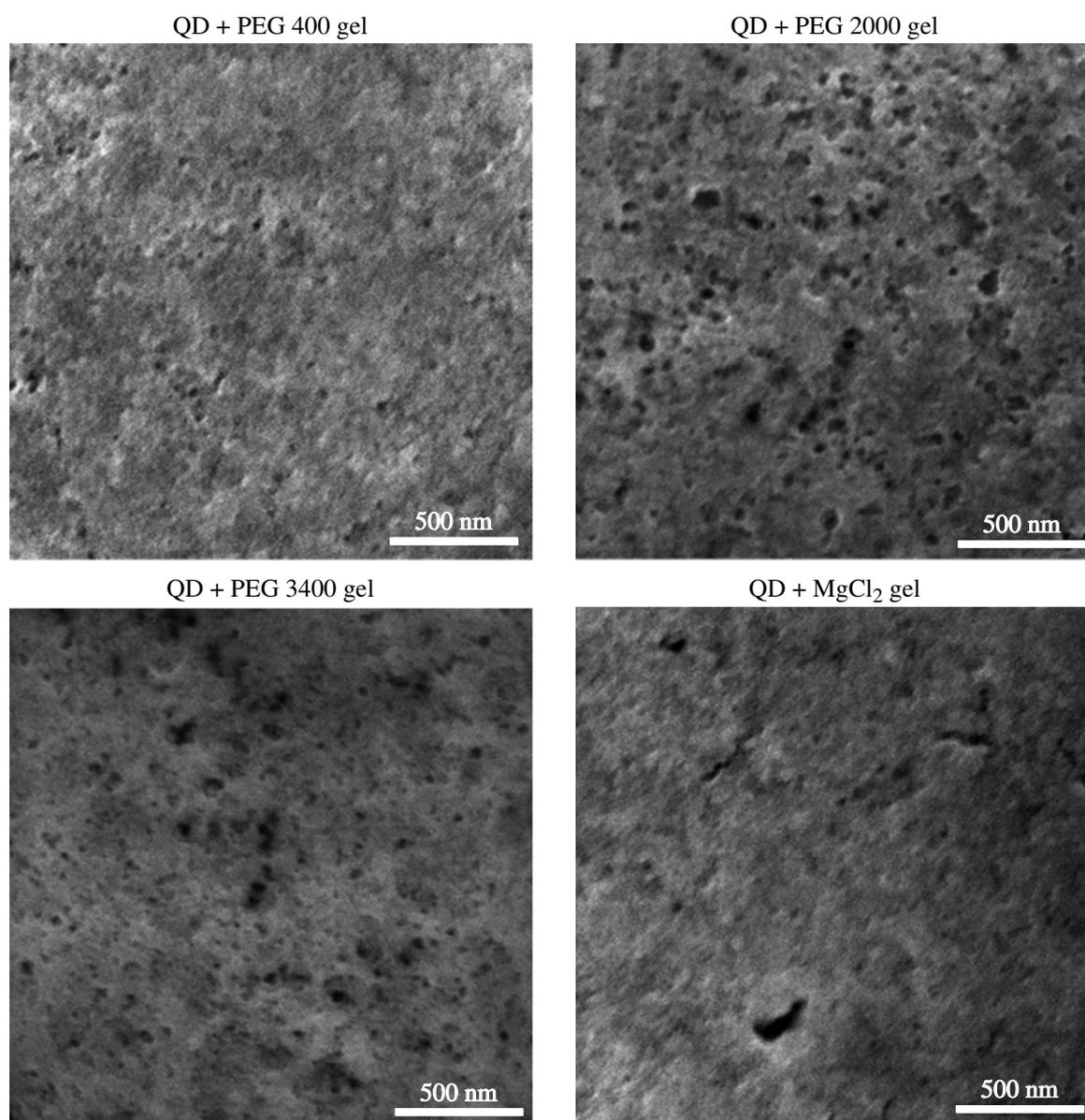
Таким образом, метод получения гелей из КТ с помощью диаминовых производных ПЭГ приводит к образованию пористых структур, при этом за счёт использования ПЭГ с разной молекулярной массой можно получить гели с разным размером пор.

#### **Сравнение КВ флуоресценции гелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля с разной молекулярной массой и при добавлении двухвалентных катионов с солибилизованными КТ**

КТ CdSe/ZnS-Cys из раствора 0.1 М NaOH обладали значением КВ флуоресценции, равным 35%. На рис. 6

представлены спектры флуоресценции растворов КТ CdSe/ZnS-Cys, а также образцов гелей из КТ, полученных с использованием диамино-ПЭГ с молекулярной массой 400, 2000 и 3400 g/mol и двухвалентных катионов ( $MgCl_2$ ).

Полученные результаты показывают смещение пика флуоресценции в красную область спектра на 4–6 nm у образцов гидрогелей из КТ CdSe/ZnS-Cys, содержащих диамино-ПЭГ, по сравнению с максимальной длиной волны испускания флуоресценции раствором КТ CdSe/ZnS-Cys. Также заметно незначительное уширение спектров гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys, содержащих диамино-ПЭГ, по сравнению со спектром раствора КТ CdSe/ZnS-Cys на 0.7–1.6 nm. Тем не менее наличие уширения и сдвига спектра в красную область указывает на уменьшение межмолекулярного расстояния между КТ в геле при снижении молекулярной массы полимера диамино-ПЭГ, что может свидетельствовать



**Рис. 5.** Микрофотографии гелей, полученных из КТ CdSe/ZnS-Cys с использованием диамино-ПЭГ с молекулярной массой 400, 2000 и 3400 g/mol и MgCl<sub>2</sub>, с помощью сканирующей электронной микроскопии.

о протекании безызлучательного переноса энергии в исследуемых системах [19].

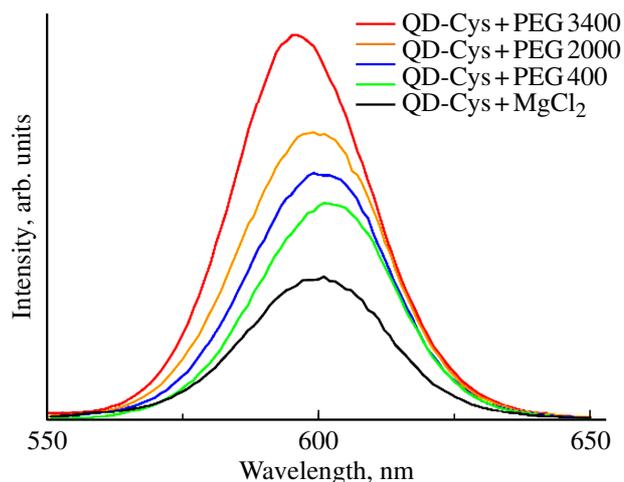
В табл. 2 представлены спектральные характеристики и значения КВ флуоресценции образцов КТ CdSe/ZnS-Cys в растворе и в образцах гидрогелей, полученных с использованием ПЭГ и двухвалентных катионов.

В процессе образования гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS-Cys с использованием диаминовых производных ПЭГ и при добавлении двухвалентных катионов наблюдается снижение величины КВ флуоресценции в диапазоне от 28 до 50%. В такой сложной системе как гидрогели добиться высокого значения КВ флуоресценции в результате гелеобразования представляется не простой задачей, в связи с чем полученные величины

КВ могут быть расценены как хорошие. При этом гидрогели, полученные с использованием диаминовых производных ПЭГ с молекулярной массой 400 и 2000 g/mol, обладают большим значением КВ флуоресценции по сравнению с гелями, полученными по стандартному методу с использованием двухвалентных катионов, а КВ флуоресценции гидрогелей, полученных с использованием ПЭГ с молекулярной массой 3400 g/mol, являются очень близкими к величинам КВ этих гидрогелей.

## Заключение

В настоящей работе разработан и оптимизирован метод получения гидрогелей на основе КТ CdSe/ZnS,



**Рис. 6.** Спектры образцов гелей на основе КТ (QD), полученных с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля с разной молекулярной массой.

модифицированных цистеином, с использованием диаминовых производных полиэтиленгликоля, и проведено их сравнение с гидрогелями, полученными при использовании стандартного метода добавления двухвалентных катионов.

Проанализирована зависимость структуры и морфологии образующихся гелей от средней молекулярной массы диаминовых производных полиэтиленгликоля, использованных для создания гидрогелей, и показана взаимосвязь молекулярной массы ПЭГ с пористостью гидрогеля, что открывает возможность создания гидрогелей с контролируемой структурой и заданными оптическими свойствами.

Кроме этого, нами продемонстрировано менее выраженное снижение КВ флуоресценции для гелей, полученных с использованием диамино-ПЭГ с молекулярной массой 400 и 2000 g/mol, чем у гелей, полученных с использованием диамино-ПЭГ с молекулярной массой 3400 g/mol и двухвалентных катионов.

Полученные результаты будут использованы для создания сенсорных систем на основе гелей, полученных из КТ CdSe/ZnS и диаминовых производных полиэтиленгликоля.

### Финансирование работы

Настоящая работа была поддержана грантом № 075-15-2021-935 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] X. Geng, D. Liu, C.C. Hewa-Rahinduwage, S.L. Brock, L. Luo. *Acc. Chem. Res.*, **56** (9), 1087 (2023). DOI: 10.1021/acs.accounts.3c00042
- [2] C. Sun, X. Shen, Y. Zhang, Y. Wang, X. Chen, C. Ji, H. Shen, H. Shi, Y. Wang, W.W. Yu. *Nanotechnology*, **28** (36), 365601 (2017). DOI: 10.1088/1361-6528/aa7c86
- [3] Z. Li, W. Xu, Y. Wang, B.R. Shah, C. Zhang, Y. Chen, Y. Li, B. Li. *Carbohydr. Polym.*, **121**, 477 (2015). DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.12.016
- [4] I. U. Arachchige, S.L. Brock. *Acc. Chem. Res.*, **40** (9), 801 (2007). DOI: 10.1021/ar600028s
- [5] J. Song, M.H. Rizvi, B.B. Lynch, J. Ilavsky, D. Mankus, J.B. Tracy, G.H. McKinley, N. Holtzen-Andersen. *ACS Nano*, **14** (12), 17018 (2020). DOI: 10.1021/acsnano.0c06389
- [6] V. Lesnyak, S.V. Voitekhovich, P.N. Gaponik, N. Gaponik, A. Eychmüller. *ACS Nano*, **4** (7), 4090 (2010). DOI: 10.1021/nn100563c
- [7] M.N. Dominguez, M.P. Howard, J.M. Maier, S.A. Valenzuela, Z.M. Sherman, J.F. Reuther, L.C. Reimnitz, J. Kang, S.H. Cho, S.L. Gibbs, A.K. Menta, D.L. Zhuang, A. van der Stok, S.J. Kline, E.V. Anslyn, T.M. Truskett, D.J. Milliron. *Chem. Mater.*, **32** (23), 10235 (2020). DOI: 10.1021/acs.chemmater.0c04151
- [8] V. Sayevich, B. Cai, A. Benad, D. Haubold, L. Sonntag, N. Gaponik, V. Lesnyak, A. Eychmüller. *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **55** (21), 6334 (2016). DOI: 10.1002/anie.201600094
- [9] D. Zámbo, A. Schlosser, P. Rusch, F. Lübke, J. Koch, H. Pfnür, N.C. Bigall. *Small*, **16** (16), 1906934 (2020). DOI: 10.1002/sml.201906934
- [10] A.M. Green, C.K. Ofosu, J. Kang, E.V. Anslyn, T.M. Truskett, D.J. Milliron. *Nano Lett.*, **22** (4), 1457 (2022). DOI: 10.1021/acs.nanolett.1c04707
- [11] S. Ganguly, S. Margel. *Talanta Open*, **8** (March), 100243 (2023). DOI: 10.1016/j.talo.2023.100243
- [12] J. Zhang, J. Jin, J. Wan, S. Jiang, Y. Wue, W. Wang, X. Gong, H. Wang. *Chem. Eng. J.*, **408** (July), 127351 (2021). DOI: 10.1016/j.cej.2020.127351
- [13] X. Li, J. Qin, Y. Hu. *Microchem. J.*, **191** (April), 108763 (2023). DOI: 10.1016/j.microc.2023.108763
- [14] M. Sun, X. Yang. *J. Phys. Chem. C*, **113** (20), 8701 (2009). DOI: 10.1021/jp811308h
- [15] M. Bugakov, N. Boiko, P. Samokhvalov, X. Zhu, M. Möller, V. Shibaev. *J. Mater. Chem. C*, **7** (15), 4326 (2019). DOI: 10.1039/c9tc00610a
- [16] D.A. East, D.P. Mulvihill, M. Todd, I.J. Bruce. *Langmuir*, **27** (22), 13888 (2011). DOI: 10.1021/la203273p
- [17] E. Lepvrier, C. Doigneaux, L. Moulintraffort, A. Nazabal, C. Garnier. *Anal. Chem.*, **86** (21), 10524 (2014). DOI: 10.1021/ac502561e
- [18] K. Suzuki, A. Kobayashi, S. Kaneko, K. Takehira, T. Yoshihara, H. Ishida, Y. Shiina, S. Oishic, S. Tobita. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11** (42), 9850 (2009). DOI: 10.1039/b912178a
- [19] L. Wu, C. Huang, B.P. Emery, A.C. Sedgwick, S.D. Bull, X.-P. He, H. Tian, J. Yoon, J.L. Sessler, T.D. James. *Chem. Soc. Rev.*, **49** (15), 5110 (2020). DOI: 10.1039/c9cs00318e