



БОНДАР

Михайло Віталійович — член-кореспондент НАН України, директор Інституту фізики НАН України

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ МОЛЕКУЛЯРНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ В УКРАЇНІ

**Стенограма наукової доповіді на засіданні
Президії НАН України 30 січня 2019 року**

Доповідь присвячено перспективам розвитку важливого напрямку сучасної нелінійної оптики — молекулярної спектроскопії складних органічних молекул і створення органічних структур із заданими спектральними властивостями, який має міждисциплінарний характер, поєднуючи фізику (зокрема нелінійну оптику), органічну хімію, молекулярну біологію, медицину, і є одним з найбільш актуальних та пріоритетних у сфері міжнародного співробітництва. Зазначено, що складні органічні структури з визначеними параметрами мають потенціал практичного застосування в галузі об'ємного запису інформації, терапії ракових пухлин, лазерній мікроскопії біологічних об'єктів тощо.

Шановні члени Президії!

Шановні колеги!

Мою сьогоднішню доповідь присвячено перспективам розвитку молекулярної спектроскопії в Україні, але, як ви розумієте, «молекулярна спектроскопія» — це дуже широкий напрям, тому я зупинюся лише на одному аспекті цієї галузі, який стосується проблеми розроблення і дослідження складних органічних молекул для широкого кола застосувань як у нелінійній оптиці, так і в біомедичній сфері. Спочатку я коротко розповім про актуальність зазначених досліджень та основні сучасні напрями їх практичного застосування, далі продемонструю наші найважливіші результати, покажу наші найкращі молекулярні структури та охарактеризую їх лінійні спектральні властивості, зупинюся на основних новітніх методах нелінійно-оптичних досліджень, а потім коротко проаналізую сучасний стан цього напрямку у світі і перспективи його розвитку в Україні.

Розроблення нових π -спряжених органічних структур з визначеними лінійними спектрально-люмінесцентними, а також нелінійно-оптичними властивостями є досить актуальним завданням з огляду на широке коло нелінійно-оптичних та

медико-біологічних застосувань. На сьогодні в цьому плані ми можемо виділити чотири основні напрями їх практичного використання:

1) розроблення різних типів нелінійно-оптичних пристроїв та систем, зокрема оптичних обмежувачів інтенсивного лазерного випромінювання, а також молекулярних лазерних середовищ;

2) об'ємний оптичний запис інформації;

3) одно- і двофотонна фотодинамічна терапія;

4) лазерна флуоресцентна мікроскопія.

Слід зазначити, що всі перелічені вище напрями застосувань спочатку розвивалися переважно для випадків однофотонного збудження. Останнім часом найбільш перспективні розробки у цій галузі пов'язані з використанням багатофотонного, зокрема двофотонного, збудження. Це пояснюється вагомими перевагами багатофотонних процесів поглинання над однофотонними, однією з яких є можливість значно більш селективного збудження певної області досліджуваного об'єкта.

Для порівняння на рис. 1 наведено результати збудження молекул флуоресцеїну у водному розчині за допомогою синього фемтосекундного лазера (ліворуч) – однофотонне поглинання – та червоного фемтосекундного лазера (праворуч) – двофотонне поглинання. У випадку однофотонного збудження, як ви бачите, флуоресціює практично весь трек лазерного пучка, який проходить крізь кювету, а у випадку двофотонного збудження флуоресціює лише маленька область, яка виглядає на рисунку як точка. Цей приклад яскраво демонструє, що означає більш селективне нелінійно-оптичне збудження в разі використання багатофотонних процесів поглинання.

За останні 15 років ми розробили досить велику кількість нових органічних структур для багатьох напрямів практичного застосування. Найцікавішими з них виявилися молекули флуоренового (рис. 2а) та ціанінового (рис. 2б) ряду. Останнім часом ми почали досліджувати і більш складні та екзотичні структури: несиметричні флуорени (рис. 3а), скварайнові похідні (рис. 3б), симетричні V-подібні флуорени

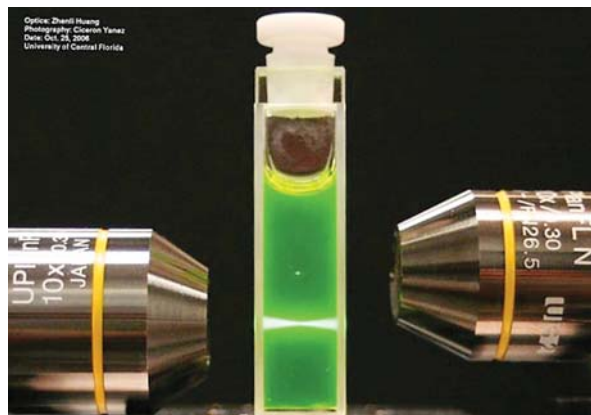


Рис. 1. Демонстрація переваг двофотонного збудження (праворуч) над однофотонним (ліворуч) на прикладі водного розчину флуоресцеїну

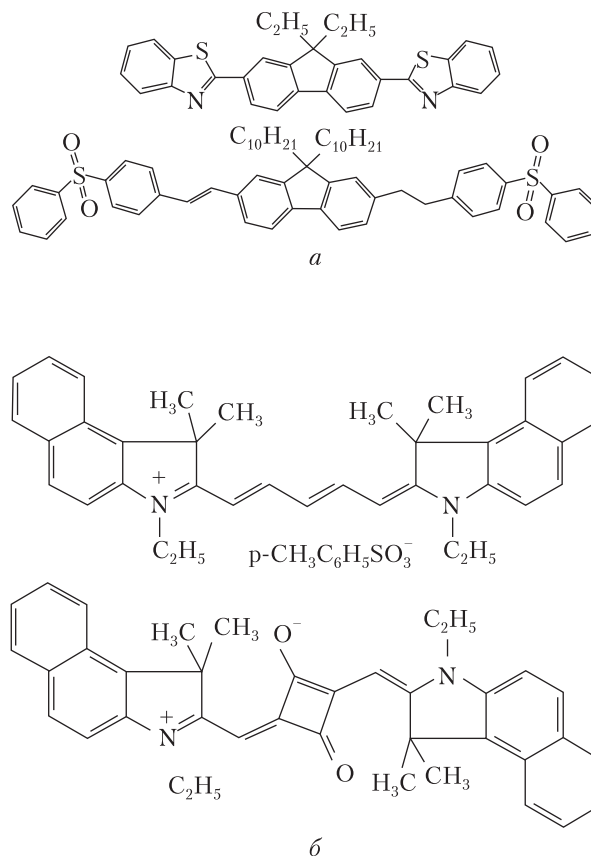


Рис. 2. Досліджувані органічні молекули флуоренового (а) та ціанінового (б) ряду

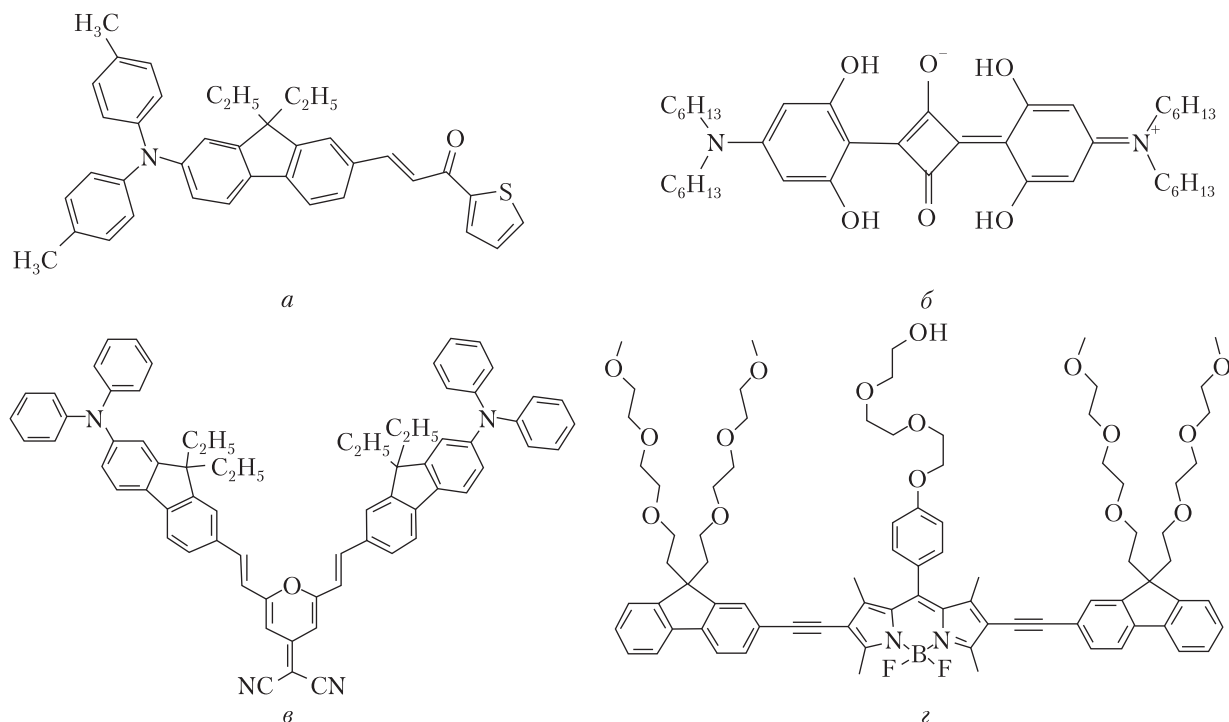


Рис. 3. Нові досліджувані органічні структури: *a* – несиметричні флуорени; *б* – сквараїнові похідні; *в* – симетричні флуорени типу V-Shaped; *г* – BODIPY-похідні

(рис. 3в), молекули зі специфічними центральними фрагментами на бензотіазольній або пірометиновій основі, які зазвичай визначають основні довгохвильові смуги поглинання, наприклад похідні бордипірометину, відомого під торговою маркою BODIPY (рис. 3г), який на сьогодні вважається чи не найефективнішим лазерним барвником (у цьому випадку наша ідея полягала в тому, щоб поєднати лазерні та флуоресцентні властивості).

Звичайно, синтез таких органічних сполук – це велика, складна і кропітка робота. Тому в цьому плані ми дуже тісно співпрацюємо з установами НАН України хімічного профілю, насамперед з Інститутом органічної хімії, Інститутом хімії високомолекулярних сполук, а також з іноземними науковими групами з хімічного факультету Університету Центральної Флориди (University of Central Florida), Технологічного інституту Нью-Джерсі (New Jersey Institute of Technology – NJIT) та ін.

Загалом спектральні дослідження молекулярних структур можна поділити на такі три основні групи:

1) лінійні фотофізичні дослідження – визначення лінійних спектральних параметрів досліджуваних молекул (спектри поглинання, флуоресценції, анізотропії; квантовий вихід емісії; час життя флуоресценції). Ця група досліджень добре розвинена в Україні – майже у кожному інституті, напрями діяльності якого пов'язані з оптичними дослідженнями, є сучасні спектрофотометри, спектрофлуориметри, що за умови правильної організації роботи дозволяє задовольнити потреби всіх наукових груп;

2) нелінійно-оптичні дослідження – визначення спектрів дво- та багатофотонного поглинання, спектрів перепоглинання зі збуджених станів, швидких процесів електронної релаксації та вимушених переходів з випромінюванням. Ситуація з цим видом досліджень в

Україні дещо складніша, оскільки їх розвиток потребує значних фінансових затрат;

3) квантово-хімічні розрахунки — встановлення зв'язків молекулярної структури з лінійними та нелінійно-оптичними параметрами молекул, прогнозування нових структур із заданими параметрами. Цей напрям тісно пов'язаний з двома першими групами досліджень, оскільки квантово-хімічні розрахунки дозволяють не лише зрозуміти нові ефекти, спостережувані в експерименті, а й передбачити властивості тих чи інших сполук ще до стадії їх синтезу. За цим напрямом в Україні є досить потужні теоретичні наукові групи.

У дослідженнях першої групи для вивчення властивостей певних органічних структур потрібно мати набір основних лінійних спектральних параметрів — спектри поглинання, флуоресценції, час життя флуоресценції, спектри анізотропії та 3D-флуоресцентні карти. Для симетричних структур, як правило, стоксів зсув не залежить суттєво від розчинника і часи життя у різних середовищах досить близькі, а от у випадку несиметричних структур можна отримати досить великий сольватохромний ефект, тобто спектри флуоресценції істотно зміщуються зі зміненням полярності (правильно обираючи полярність, можна перекрити спонтанну флуоресценцію у всьому видимому і близькому ІЧ-діапазоні), і їх часи життя різко відрізняються (що може бути важливим для ідентифікації об'єкта в біологічній структурі). У такий спосіб можна задовольнити ті чи інші вимоги, які ставлять до молекулярного об'єкта в рамках його конкретного застосування. Дослідження лінійних спектральних властивостей є першим необхідним етапом для всіх практичних напрямів і, як я вже казав, вони не потребують якихось високовартісних специфічних приладів — це типові рутинні оптичні дослідження, які успішно проводяться в Україні, в тому числі і в Інституті фізики НАН України.

Проте для проведення серйозних нелінійно-оптичних досліджень потрібні короткі і досить потужні лазерні імпульси. Як правило, для цього використовують фемтосекундні лазерні

системи, які мають вихідні імпульси тривалістю 100–200 фс. А це вже зовсім недешево. Наприклад, середня вартість типового фемтосекундного лазерного комплексу становить приблизно 500 тис. дол. США. Зрозуміло, що з об'єктивних причин широко застосовувати таку техніку в Україні немає можливості.

Фемтосекундний лазерний комплекс дає змогу реалізовувати всі сучасні методики для дослідження нелінійно-оптичних властивостей різних структур. Це насамперед однопучкова методика Z-scan з відкритою апертурою для визначення перерізів багатофотонного поглинання для нових органічних сполук, а також двопучкова методика pump-probe для дослідження спектрів перепоглинання зі збуджених станів для вивчення швидких релаксаційних процесів у молекулярних системах і процесів вимушених оптичних переходів з випромінюванням.

Як приклад таких оригінальних результатів можна навести визначення спектрів вимушених переходів з випромінюванням. Для чого вони потрібні? Одним із найбільш перспективних напрямів флуоресцентної мікроскопії є так звана STED-мікроскопія, або мікроскопія надвисокої роздільної здатності. Це дуже потужний експериментальний напрям, за розвиток якого у 2014 р. Еріку Бетцигу (Eric Betzig), Штефану Геллю (Stefan Hell) та Вільяму Мернеру (William E. Moerner) було присуджено Нобелівську премію з хімії.

У звичайній флуоресцентній мікроскопії використовують один фемтосекундний лазерний пучок гаусового профілю з довжиною хвилі, що відповідає спектру поглинання досліджуваної молекули. Цей пучок збуджує флуоресцентний піксель $\sim 0,3$ мкм, і зменшити розміри цього пікселя заважає так званий дифракційний ліміт. Основна ідея методу STED-мікроскопії полягає в тому, що для збудження застосовують не один, а два лазерні пучки. Один з цих пучків має довжину хвилі, що потрапляє в контур поглинання молекули і має гаусовий просторовий розподіл. Він збуджує пляму флуоресценції, розмір якої дифракційно лімітований. Другий достатньо потужний лазерний

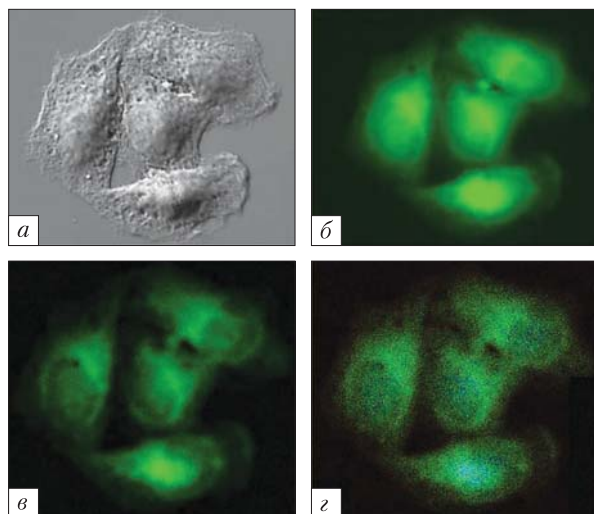


Рис. 4. Зображення HeLa-клітин з несиметричним флуореном: *a* – DIC-зображення (за допомогою диференціальної інтерференційно-контрастної мікроскопії); *б* – однофотонно збуджене флуоресцентне зображення; *в* та *г* – двофотонно збуджене флуоресцентне зображення

пучок з довжиною хвилі, що відповідає контуру флуоресценції, має тороїдний просторовий розподіл і гасить спонтанну флуоресценцію на периферійних частинах цієї флуоресцентної плями, тим самим суттєво звужуючи її. Це дає змогу подолати дифракційний ліміт і замість типових для світлової мікроскопії розмірів 300–400 нм вивчати об'єкти з розмірами порядку 100 нм. Сьогодні цей метод уже вдосконалено настільки, що він дає змогу розрізняти об'єкти розміром до 10 нм, тобто це вже практично рентгенівський діапазон при оптичному збудженні.

Якою ж має бути молекула для ефективного застосування методу STED-мікроскопії? Зрозуміло, що молекула повинна мати високий переріз одно- чи двофотонного поглинання, а також ефективний переріз одно- чи двофотонних переходів з випромінюванням. Тому дослідження спектрів вимушених переходів з випромінюванням у молекулярних структурах має як суто фундаментальне, так і практичне значення. Актуальність таких досліджень посилюється ще й тим фактором, що

цих спектрів, на відміну від багатьох інших молекулярних параметрів, практично немає у науковій літературі, а саме вони й визначають потенціал практичного використання тих чи інших молекул у мікроскопії надвисокої роздільної здатності. Використовуючи методику гасіння флуоресценції, ми вперше отримали спектри вимушених двофотонних переходів з випромінюванням для різних молекулярних структур.

На основі результатів досліджень, про які я казав вище, ми розробили серії нових флуоренових і ціанінових молекул з ефективним двофотонним поглинанням, які мають високий потенціал практичного використання, зокрема у двофотонній флуоресцентній мікроскопії. Як приклад такого реального застосування на рис. 4 наведено флуоресцентні зображення ракових клітин, так званих HeLa-клітин. Можна порівняти інформативність звичайного диференціального DIC-зображення з однофотонним та двофотонними флуоресцентними зображеннями.

Напрямок молекулярних нелінійно-оптичних досліджень досить поширений у світі, але потужних наукових груп, які формують передній фронт досліджень у цій галузі, не так уже й багато. Ми тісно співпрацюємо майже з усіма такими провідними світовими центрами: з Технологічним інститутом штату Джорджія в м. Атланти (Georgia Institute of Technology); Університетом Центральної Флориди в м. Орlando (University of Central Florida); Технологічним інститутом Нью Джерсі (New Jersey Institute of Technology); Університетом штату Нью-Йорк у Баффало (University at Buffalo); Army Research Lab; Airforce Research Lab; Університетом міста Парми (Італія); Університетом Антверпена (Бельгія); Лазерним центром Ганновера (Німеччина); Інститутом фізики Померанського університету (м. Слупськ, Польща) та ін.

На сьогодні вже чітко розроблено і відпрацьовано основні принципи, критерії та підходи до отримання ефективних нелінійно-оптичних параметрів π -спряжених органічних структур для всіх головних напрямів їх прак-

тичного застосування. Тепер головне завдання полягає у пошуку універсальних структур, які одночасно задовольняли б цілу низку вимог і комбінували б в одній молекулі всі потрібні для створення певних пристроїв властивості, скажімо, високий переріз багатфотонного поглинання, високий квантовий вихід флуоресценції або квантовий вихід у триплетний стан, високий переріз перепоглинання зі збуджених електронних станів, високу фотохімічну стабільність тощо.

В Україні також є наукові групи в установах НАН України та закладах вищої освіти, які активно займаються оптичною молекулярною спектроскопією. Серед академічних установ слід згадати Інститут фізики, Інститут органічної хімії, Інститут хімії високомолекулярних сполук, Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна, Інститут сцинтиляційних матеріалів; серед закладів вищої освіти — це насамперед Київський національний університет імені Тараса Шевченка. Є також окремі науковці з інших установ, але це переважно теоретики, які займаються квантово-хімічними розрахунками.

В Інституті фізики НАН України напрям нелінійно-оптичних досліджень розвивається, передусім у відділі фотоактивності, вже понад 40 років. Вивчення цієї проблеми розпочалося з робіт Марата Терентійовича Шпака. Добре відома його класична монографія з нелінійної оптики складних органічних молекул. Крім того, в Інституті добре поставлено нелінійно-оптичні методики, насамперед у відділі фотонних процесів під керівництвом Івана Васильовича Блонського та у відділі нелінійної оптики під керівництвом Михайла Семеновича Бродина.

З Інститутом органічної хімії НАН України за напрямом нелінійної молекулярної спектроскопії ми співпрацюємо вже багато десятиліть. У цій установі було синтезовано перші в Україні ціанінові барвники для застосування в рідких лазерах, об'єкти для генерації в холестеричних рідких кристалах, яку вперше у світі було отримано в Інституті фізики НАН України, та багато інших цікавих для нелі-

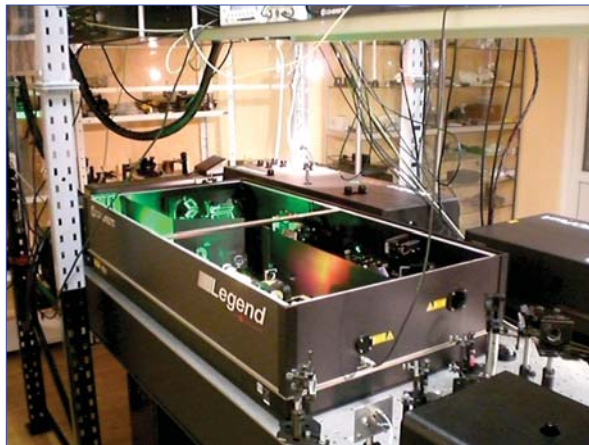


Рис. 5. Фемтосекундний лазерний комплекс Інституту фізики НАН України

нійної оптики органічних сполук. В Інституті хімії високомолекулярних сполук НАН України було синтезовано лазерні полімери для застосування у молекулярній спектроскопії. Плідно розвивається наше співробітництво з фізичним факультетом Київського національного університету імені Тараса Шевченка, передусім з кафедрою експериментальної фізики та кафедрою оптики, з Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України та з Інститутом сцинтиляційних матеріалів НАН України, у відділі наноструктурних матеріалів якого під керівництвом Юрія Вікторовича Малюкіна добре поставлено нано- і пікосекундні методики.

Звичайно, стан розвитку нелінійної молекулярної спектроскопії в Україні з точки зору експериментальних досліджень не є задовільним. Єдиний в Україні фемтосекундний лазерний комплекс знаходиться в Інституті фізики НАН України. Це не дуже нова система, але вона дозволяє проводити нелінійно-оптичні дослідження на рівні сучасних світових стандартів. Проте цей фемтосекундний лазер один на всю країну і, звісно, не може задовольнити потреби всіх наукових груп. Минулого року Президія НАН України виділила 500 тис. грн на підтримання комплексу в робочому стані, але цих коштів украї недостатньо. Так, завдяки високому фаховому рівню і майстерності наших співробітників нам вдалося своїми си-

лами відновити лазер накачки, вартість якого перевищує 1 млн грн.

Основним завданням на сьогодні є поліпшення ситуації з новими приладами і розвиток ефективного міжнародного співробітництва. У зарубіжних країнах експериментальні наукові дослідження фінансуються набагато краще. Кожна третя, якщо не кожна друга оптична лабораторія в США та європейських країнах оснащена фемтосекундною лазерною системою. Проте далеко не в усіх цих лабораторіях є необхідний кваліфікаційний рівень наукового персоналу для проведення сучасних нелінійно-оптичних досліджень. Тому для українських фахівців встановлення тісних контактів із зарубіжними оптичними лабораторіями дозволяє проводити спільні дослідження з використанням їхньої техніки.

Окремо хочу зазначити, що, можливо, було б доцільно створити на базі Інституту фізики НАН України Міжнародний центр молекулярної спектроскопії, оскільки, крім фемтосекундного лазерного комплексу, у нас добре поставлено наносекундні і пікосекундні методи. На мою думку, це значною мірою сприяло б розвитку міжнародного співробітництва у

цьому напрямі і дало б змогу підвищити рівень нелінійно-оптичних досліджень в Україні.

Отже, нелінійно-оптична молекулярна спектроскопія — важлива міждисциплінарна галузь науки, яка бурхливо розвивається в усьому світі і має широке коло важливих практичних застосувань. Галузь має значні комерційні перспективи, які визначаються станом наукомісткої промисловості, зокрема розвитком телекомунікаційних технологій, біомедичної діагностики, медицини, а також оптоелектроніки та оптичного приладобудування.

В Україні є наукові групи, які займаються цією тематикою на світовому рівні, але в цілому галузь розвинена недостатньо. Розроблення і дослідження складних органічних молекул з визначеними лінійними фотофізичними і нелінійно-оптичними параметрами потребують продовження з розширенням міжнародної наукової співпраці. Необхідне також поліпшення матеріально-технічної бази досліджень, яка на сьогодні лишається незадовільною.

Дякую за увагу!

За матеріалами засідання підготувала О.О. Мележик