



**Autoreferat  
do wniosku habilitacyjnego**  
(załącznik Z3)

Hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne

**dr Katarzyna Ranoszek-Soliwoda**

Łódź 2021

## Spis treści

<b>1. Dane personalne</b>	<b>3</b>
<b>2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe</b>	<b>3</b>
<b>3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu</b>	<b>3</b>
3.1. Przebieg pracy naukowej przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora	3
3.2. Przebieg pracy naukowej po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	4
<b>4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy</b>	<b>6</b>
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	6
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	6
4.3. Autoreferat wraz z omówieniem osiągnięcia naukowego	8
4.3.1. Wstęp	8
4.3.2. Cel badań realizowanych w ramach habilitacji	9
4.3.3. Hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne do zastosowań w układach elektronicznych	9
4.3.3.1. Funkcjonalizacja nanocząstek w celu transferu międzyfazowego nanocząstek z koloidów wodnych do rozpuszczalników niepolarnych	10
4.3.3.2. Funkcjonalizacja nanocząstek w procesie wytwarzania w rozpuszczalnikach niepolarnych	13
4.3.3.3. Kształtowanie rozmieszczenia nanocząstek w materiale	15
4.3.4. Hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne do zastosowań biomedycznych	17
4.3.4.1. Opracowanie protokołu analitycznego w oparciu o metodę elektroforezy żelowej umożliwiającego określenie ilości białka adsorbowanego na pojedynczej nanocząstce	19
4.3.4.2. Immobilizacja enzymów antyoksydacyjnych na nanocząstkach metalicznych	21
4.3.4.3. Funkcjonalizacja nanocząstek metalicznych związkami pochodzenia naturalnego	25
4.4. Podsumowanie	29
4.5. Literatura	31
<b>5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej</b>	<b>34</b>
<b>6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę</b>	<b>35</b>
6.1. Osiągnięcia dydaktyczne	35
6.1.1. Prowadzone zajęcia dydaktyczne	35
6.1.2. Opieka naukowa nad doktorantami	36
6.1.3. Opieka naukowa nad magistrantami	36
6.1.4. Opieka naukowa nad licencjatami	36
6.1.5. Recenzje prac licencjackich	36
6.1.6. Recenzje prac magisterskich	36
6.2. Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki	36
6.3. Działalność organizacyjna	37
<b>7. Nagrody i wyróżnienia</b>	<b>37</b>
<b>8. Recenzje artykułów w czasopismach naukowych</b>	<b>37</b>

## 1. Dane personalne

dr Katarzyna Ranoszek-Soliwoda

## 2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2012 – **doktor nauk chemicznych w dyscyplinie: chemia**  
Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Badania tribologiczne i fizykochemiczne warstw zol-żel tlenku tytanu domieszkowanych nanocząstkami ceramicznymi*  
Promotor: prof. dr hab. Jarosław Grobelny

2008 – **magister chemii, specjalność: nanotechnologia**  
Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki

Tytuł pracy dyplomowej: *Wytwarzanie kompozytów ceramicznych zawierających nanocząstki  $ZrO_2$  dla zastosowań tribologicznych*  
Promotor: dr hab. Ireneusz Piwoński

## 3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu

02. 2018 – nadal – adiunkt naukowo-dydaktyczny,  
Katedra Technologii i Chemii Materiałów, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki

04.2016 – 10.2016 – urlop macierzyński

2014 – 2018 – adiunkt naukowy,  
Katedra Technologii i Chemii Materiałów, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki,

2012 – 2014 – chemik w grupie pracowników naukowo-technicznych,  
Katedra Technologii i Chemii Materiałów, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki

### 3.1. Przebieg pracy naukowej przed uzyskaniem stopnia doktora

W 2003 roku rozpoczęłam studia na Wydziale Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego na kierunku Chemia. Pracę magisterską zatytułowaną „*Wytwarzanie kompozytów ceramicznych zawierających nanocząstki  $ZrO_2$  dla zastosowań tribologicznych*” wykonaną pod kierunkiem dr hab. Ireneusza Piwońskiego obroniłam na Wydziale Chemii 4 lipca 2008 roku, uzyskując tytuł magistra chemii w specjalności nanotechnologia. Tematyka pracy dyplomowej dotyczyła projektowania, wytwarzania oraz charakterystyki morfologicznej i tribologicznej kompozytów ceramicznych w postaci cienkich warstw domieszkowanych nanocząstkami ceramicznymi.

W 2008 roku rozpoczęłam Studia Doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego kontynuując tematykę badawczą i pogłębiając zagadnienia związane z określeniem wpływu obecności nanocząstek ceramicznych na właściwości fizykochemiczne i tribologiczne materiałów nanokompozytowych. Moja działalność naukowa związana była głównie z kształtowaniem mikrostruktury cienkich powłok tlenku tytanu (IV) w skali mikro i nanometrowej poprzez wprowadzanie do ich struktury drugiego składnika w postaci nanocząstek ceramicznych:  $Al_2O_3$ ,  $ZrO_2$ ,  $C_{DIAM}$ , o rozmiarze ziaren odpowiednio: 80 nm, 5-20 nm oraz 3-5 nm. Nanokompozyty wytworzone zostały metodą zol-żel, która umożliwiła wprowadzenie do materiału nanocząstek w postaci proszku. W celach porównawczych badaniom poddano powłoki tlenku tytanu (IV) wytwarzane tą samą

metodą, ale bez dodatku nanocząstek. Rozmiar oraz kształt nanocząstek w postaci proszku scharakteryzowano wykorzystując wysokorozdzielczy transmisyjny mikroskop elektronowy (HR-TEM) oraz mikroskopię sił atomowych (AFM). Obecność nanocząstek w materiale potwierdzono wykonując badania składu chemicznego techniką mikroanalizy rentgenograficznej (EDS). Dodatkowo, wykorzystując technikę AFM oraz skaningową mikroskopię elektronową (SEM), zbadano topografię powierzchni potwierdzając obecność nanocząstek w materiale oraz ich rozkład na powierzchni. Badania tribologiczne nanokompozytów obejmowały pomiar wartości współczynnika tarcia oraz przeprowadzenie testów tarciovych, celem określenia odporności na zużycie ścierne wytworzonych materiałów. Wszystkie badania tarciove prowadzono w warunkach tarcia technicznie suchego, bez dodatku środka smarowego wykorzystując mikrotribometr (tester T-23) w miliniutonowym zakresie obciążeń, w skojarzeniu tarciovym: badana próbka/ kulka ZrO<sub>2</sub> stabilizowana tlenkiem itru. Oceny odporności na zużycie ścierne dokonano na podstawie analizy szerokości śladu po teście tarciovym, składającym się z wielokrotnych przejazdów przeciwpróbki w jednym miejscu na badanej powłoce. W testach wykorzystano mikrotribometr, przykładając do badanych materiałów stałe obciążenie o wartości 80 mN. Ślady po testach tarciovych badano wykorzystując mikroskopię optyczną oraz techniki AFM i SEM. W toku prac eksperymentalnych wykazano i określono wpływ obecności nanocząstek na wzrost odporności na zużycie ścierne powłok tlenku tytanu (IV). Ponadto, dokonano optymalizacji parametrów wytwarzania powłok tlenku tytanu (IV) domieszkowanych nanocząstkami ceramicznymi, ustalając technikę nanoszenia, ilość powłok, temperaturę wygrzewania materiału oraz rodzaj i ilość nanocząstek, jaką należy dodać do powłok tlenku tytanu (IV), aby otrzymać materiał końcowy odporny na zużycie ścierne w miliniutonowym zakresie obciążeń.

Część badań obejmujących zakres tematyczny rozprawy doktorskiej zrealizowana była w ramach stażu naukowego w Swiss Federal Laboratories for Materials Science and Technology (EMPA) Dübendorf (Szwajcaria), gdzie wykonałam charakterystykę fizykochemiczną nanocząstek tlenku cyrkonu w zolu tlenku tytanu (IV) z wykorzystaniem mikroskopii HR-TEM oraz badania morfologiczne powłok nanokompozytowych z wykorzystaniem profilometru oraz mikroskopii AFM. Byłam również głównym wykonawcą promotorskiego grantu badawczego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2010-2012 oraz stypendystką dwóch projektów badawczych wspierających działania młodych naukowców współfinansowanych przez Unię Europejską: w 2009 roku („Stypendia wspierające innowacyjne badania naukowe doktorantów”) oraz w latach 2010-2012 („Doktoranci – Regionalna Inwestycja w Młodych Naukowców”).

Podjęte w ramach rozprawy doktorskiej prace badawcze umożliwiły określenie wpływu wybranych czynników (rodzaj oraz stężenie nanocząstek, ilość warstw kompozytowych, temperatura wygrzewania oraz metoda nakładania materiałów) na właściwości tribologiczne i fizykochemiczne materiałów na bazie tlenku tytanu (IV) wytwarzanych metodą zol-żel oraz zaprojektowanie i wytworzenie nanomateriałów funkcjonalnych o unikalnych właściwościach przeciwzużyciowych. Z tego zakresu badań opublikowałam 2 prace, których jestem współautorką [1, 2]. W 2012 roku przygotowałam pod kierunkiem prof. dr hab. Jarosława Grobelnego rozprawę doktorską zatytułowaną: „Badania tribologiczne i fizykochemiczne warstw zol-żel tlenku tytanu domieszkowanych nanocząstkami ceramicznymi” i 6 lipca 2012 r. uzyskałam tytuł doktora nauk chemicznych w dziedzinie chemii.

### 3.2.Przebieg pracy po uzyskaniu stopnia doktora

W 2012 roku zostałam zatrudniona na stanowisku chemika w grupie pracowników naukowo-technicznych w Katedrze Technologii i Chemii Materiałów Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego jako wykonawca projektu finansowanego z 7 Programu Ramowego Unii Europejskiej pt. „Hybrid organic/inorganic memory elements for integration of electronic and photonic circuitry (Contract: 263073). W tym okresie odbyłam dwa krótkoterminowe wyjazdy naukowe związane z realizacją projektu do partnerów zagranicznych uczestniczących w realizacji projektu (Universität Tübingen, Niemcy oraz Università Degli Studi di Roma Tor Vergata, Włochy). Rozpoczęte w ramach realizacji projektu z 7PR badania dotyczące wytwarzania oraz

charakterystyki nanocząstek funkcjonalnych kontynuuję do dnia dzisiejszego. W okresie od 2014 do 2018 roku pracowałam na stanowisku adiunkta naukowego, natomiast od lutego 2018 roku do dnia dzisiejszego pracuję na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego. W okresie od kwietnia do września 2016 roku przebywałam na 6 miesięcznym urlopie macierzyńskim.

Temat funkcjonalizacji nanocząstek stał się przedmiotem kolejnych projektów badawczych, w których pełniłam funkcję kierownika (2 projekty) oraz wykonawcy (8 projektów). Były to granty badawcze: dotacja celowa dla młodych naukowców Uniwersytetu Łódzkiego (*Kontrolowana funkcjonalizacja nanomateriałów* B1811100001860.02 oraz *Funkcjonalizacja nanomateriałów do zastosowań biologicznych* B1711100001603.02) gdzie pełniłam funkcję kierownika, oraz granty przyznane przez: Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (*Hybrydowe organiczno/nieorganiczne elementy pamięci wykorzystujące zintegrowane układy elektroniczne i fotoniczne* W188/7.PR/2011) oraz Narodowe Centrum Nauki (*Sfunkcjonalizowane nanocząstki metali szlachetnych jako stymulatory odpowiedzi immunologicznej w zakażeniu herpeswirusem typu 1 i 2* OPUS- 2018/31/B/NZ6/02606; *Nanocząstki srebra koniugowane taninami - badania nad ich aktywnością regeneracyjną w zastosowaniach dermalnych* OPUS- 2014/12/B/NZ5/01356; *Analiza potencjału antyoksydacyjnego białek immobilizowanych na nanocząsteczkach. Badania in vitro, in vivo* OPUS- 2013/09/B/NZ/01019; *Badanie zależności między budową chemiczną i topografią powierzchni superhydrofobowych a ich właściwościami przeciwooblodzeniowymi* OPUS- 2012/05/B/ST8/02876; *Wielofunkcyjna modyfikacja materiałów włókienniczych nanostrukturami metalicznymi z powłokami tlenków metali* OPUS-2018/29/B/ST8/02016), których byłam wykonawcą. Jestem również wykonawcą projektu z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (TANGO) dotyczącego projektowania i wytwarzania hybrydowych powłok superhydrofobowych i przeciwooblodzeniowych (*Hybrydowe powłoki superhydrofobowe i przeciwooblodzeniowe* 2012/05/B/ST8/02876) oraz projektu aplikacyjnego „Bon na innowacje” realizowanego w ramach Polskiej Agencji Rozwoju Przedsiębiorczości pt. „Powłoka o obniżonej adhezji lodu (hydrofobowa) z warstwą grzejącą i innym sposobem odspajania lodu zintegrowanym z powłoką do zastosowań we wszelkich wymiennikach ciepła”).

Zdobyta przez kilka lat realizacji projektów badawczych wiedza i doświadczenie z zakresu wytwarzania oraz charakterystyki nanomateriałów pozwoliły mi na poszerzenie oraz zgłębienie zagadnień związanych z projektowaniem, wytwarzaniem, funkcjonalizacją oraz charakterystyką fizykochemiczną nowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych oraz umożliwiło świadome wytwarzanie takich układów hybrydowych dostosowanych do pełnienia ściśle określonych funkcji.

Zgromadzony dorobek naukowy obejmuje: 41 publikacji naukowych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej; 2 rozdziały w monografiach naukowych; 1 przyznany patent; udział jako wykonawca w realizacji: 5 projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, 2 projektach finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, 1 projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, 1 projektu finansowanego przez Unię Europejską w ramach 7 Programu Ramowego, 1 projektu finansowanego przez Polską Agencję Rozwoju Przedsiębiorczości, oraz 4 projektach, w których pełniłam funkcję kierownika, w tym 2 po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk chemicznych finansowane przez Uniwersytet Łódzki. Wyniki naukowe prezentowane były 108 konferencjach naukowych, w tym na 36 konferencjach międzynarodowych, 69 konferencji krajowych oraz 3 wykładach zaproszonych.

Sumaryczny impact factor wszystkich publikacji wg listy *Journal Citation Reports* (JCR) wynosi IF = 129,152 (zgodnie z rokiem opublikowania) oraz IF<sub>2020</sub>=147,734 (zgodnie z rokiem składania dokumentacji). Sumaryczna liczba punktów MNiSW wszystkich publikacji wg wykazu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 9 lutego 2021 r. wynosi 4000. Całkowita liczba cytowań wg bazy Scopus wynosi 681, index Hirscha =13.

#### 4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

##### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

### Hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne

Osiągnięcie naukowe stanowi jednotematyczny cykl publikacji od H1-H11. Oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego zgodnie z *Regulaminem określającym szczegółowy tryb postępowania w sprawie nadania stopnia doktora i doktora habilitowanego w Uniwersytecie Łódzkim* (Załącznik do uchwały nr 660 Senatu UŁ z dnia 27 stycznia 2020 r.) oraz kopie tych publikacji zostały umieszczone w Załączniku 5 (oświadczenia współautorów) i Załączniku 6 (kopie publikacji).

##### 4.2. Publikacje naukowe wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

(współczynnik oddziaływania IF podany za rok 2020; punkty MNiSW według wykazu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 9 lutego 2021r.; cytowania podane wg bazy Scopus)

[H1] **K. Soliwoda**, E. Tomaszewska, B. Tkacz-Szczesna, E. Mackiewicz, M. Rosowski, A. Bald, C. Blanck, M. Schmutz, J. Novák, F. Schreiber, G. Celichowski, J. Grobelny, Effect of the alkyl chain length of secondary amines on the phase transfer of gold nanoparticles from water to toluene, *Langmuir* 30 (2014) 6684–6693

IF = 3,557; MNiSW = 100; cytowania: 18

[H2] **K. Soliwoda**, E. Tomaszewska, B. Tkacz-Szczesna, M. Rosowski, G. Celichowski, J. Grobelny, The influence of the chain length and the functional group steric accessibility of thiols on the phase transfer efficiency of gold nanoparticles from water to toluene, *Polish Journal of Chemical Technology* 16 (2014), 86–91

IF = 1,193; MNiSW = 20; cytowania: 8

[H3] **K. Soliwoda**, M. Rosowski, E. Tomaszewska, B. Tkacz-Szczesna, G. Celichowski, J. Grobelny, Electro spray deposition of gold nanoparticles from aqueous colloids on solid substrates, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 486 (2015) 211–21

IF = 3,990; MNiSW = 70; cytowania: 12

[H4] **K. Soliwoda**, M. Rosowski, E. Tomaszewska, B. Tkacz-Szczesna, G. Celichowski, M. Psarski, J. Grobelny, Synthesis of monodisperse gold nanoparticles via electro spray-assisted chemical reduction method in cyclohexane, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 482 (2015) 148–153

IF = 3,990; MNiSW = 70; cytowania: 22

[H5] **K. Ranoszek-Soliwoda**, M. Girleanu, B. Tkacz-Szczesna, M. Rosowski, G. Celichowski, M. Brinkmann, O. Ersen, J. Grobelny, Versatile phase transfer method for the efficient surface functionalization of gold nanoparticles: towards controlled nanoparticle dispersion in a polymer matrix, *Journal of Nanomaterials*, Volume 2016, Article ID 9058323, 10 pages

IF = 1,980; MNiSW = 70; cytowania: 0

[H6] **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Czechowska, E. Tomaszewska, G. Celichowski, T. Kowalczyk, T. Sakowicz, J. Szemraj, J. Grobelny, Catalase-modified gold nanoparticles: Determination of the degree of protein adsorption by gel electrophoresis, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 159 (2017) 533–539

IF = 4,389; MNiSW = 100; cytowania: 7

[H7] **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Tomaszewska, E. Socha, P. Krzyczmonik, A. Ignaczak, P. Orłowski, M. Krzyzowska, G. Celichowski, J. Grobelny, The role of tannic acid and sodium citrate in the synthesis of silver nanoparticles, *Journal of Nanoparticles Research* 19 (2017) 273

IF = 2,132; MNiSW = 70; cytowania: 78

[H8] E. Czechowska, **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Tomaszewska, A. Pudlarz, G. Celichowski, D. Gralak-Zwolenik, J. Szemraj, J. Grobelny, Comparison of the antioxidant activity of catalase immobilized on gold nanoparticles via specific and non-specific adsorption, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 171 (2018) 707–714

IF = 4,389; MNiSW = 100; cytowania: 13

[H9] A. M. Pudlarz, **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Czechowska, E. Tomaszewska, G. Celichowski, J. Grobelny, J. Szemraj, A Study of the Activity of Recombinant Mn-Superoxide Dismutase in the Presence of Gold and Silver Nanoparticles, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 187 (2019) 1551–1568

IF = 2.277; MNiSW = 70; cytowania: 7

[H10] P. Orłowski, M. Zmigrodzka, E. Tomaszewska, **K. Ranoszek-Soliwoda**, B. Pajak, A. Slonska, J. Cymerys, G. Celichowski, J. Grobelny, M. Krzyzowska, Polyphenol-Conjugated Bimetallic Au@AgNPs for Improved Wound Healing, *International Journal of Nanomedicine* 15 (2020) 4969–4990

IF = 5.115; MNiSW = 140; cytowania: 2

[H11] **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Czechowska, E. Tomaszewska, A. Pudlarz, J. Szemraj, G. Celichowski, J. Grobelny, Differences in corona formation of catalase immobilised on gold and silver nanoparticles, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 600 (2020) 125003

IF = 3.990; MNiSW = 70; cytowania: 0

Łączny współczynnik oddziaływania za rok 2020 publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego IF = 37,002 punkty MNiSW = 880, liczba cytowań wg bazy Scopus = 168.

### 4.3. Autoreferat wraz z omówieniem osiągnięcia naukowego

#### 4.3.1. Wstęp

Nanocząstki metaliczne, szczególnie złota i srebra, są obecnie szeroko stosowane w wielu różnych dziedzinach począwszy od elektroniki [3], optyki [4], poprzez katalizę [5], aż po diagnostykę [6] oraz medycynę [7-9]. To szerokie spektrum aplikacyjne nanocząstek wynika z ich unikalnych właściwości będących konsekwencją nanometrowych rozmiarów. Jednocześnie, wraz ze zmniejszaniem rozmiarów nanocząstek wzrasta udział atomów powierzchniowych w stosunku do objętości materiału. W przypadku klastrow o rozmiarze 1 nm na powierzchni znajduje się aż 80% wszystkich atomów, natomiast dla cząstek o rozmiarach kilku nanometrów atomy powierzchniowe stanowią około 50% wszystkich atomów budujących dany obiekt [10]. Tak duży udział atomów powierzchniowych dostępnych do modyfikacji, sprawia, że nanocząstki są doskonałymi kandydatami do „zadokowania” różnego typu związków chemicznych na ich powierzchni.

Unikalne właściwości nanocząstek, determinujące ich szerokie spektrum aplikacji, wynikają nie tylko ich nanometrowych rozmiarów. Czynnikiem równie istotnym warunkującym i wpływającym na unikalne właściwości nanocząstek są substancje obecne na ich powierzchni, które nazywane są często stabilizatorami, ligandami, modyfikatorami czy związkami do funkcjonalizacji. Nazewnictwo to, związane jest bezpośrednio z funkcją, jaką ma pełnić ten związek na powierzchni nanocząstek. Pierwszym i nadrzędnym celem modyfikacji nanocząstek jest zapewnienie im stabilności koloidalnej w określonym rozpuszczalniku (roztwór wodny, rozpuszczalnik organiczny itp.). Drugim, ale równie ważnym celem modyfikacji nanocząstek, jest wprowadzanie dodatkowych funkcjonalności do nanocząstek poprzez adsorpcję związku funkcyjnego bezpośrednio do powierzchni nanocząstek lub poprzez grupę funkcyjną zdolną do post-funkcjonalizacji. Rola tzw. modyfikatora jest zatem w przypadku nanocząstek kluczowa, zarówno od strony zabezpieczenia ich przed agregacją czy aglomeracją (procesów niepożądanych prowadzących do utraty unikalnych właściwości nanocząstek), jak również, z punktu widzenia nadania im określonych właściwości i dostosowania do wymagań określonych zastosowań. Dodatkowo, poprzez odpowiednią funkcjonalizację, możliwe jest kształtowanie właściwości nanocząstek w celu uzyskania specyficzności i/lub selektywności ich działania, szczególnie istotnych w przypadku zastosowań biomedycznych. W związku z tym, nanocząstki należy traktować i rozpatrywać jako układy hybrydowe składające się z rdzenia nanocząstki oraz warstwy modyfikatora znajdującego się na jego powierzchni, które razem tworzą hybrydową nanocząstkę funkcjonalną.

W zależności od rodzaju materiałów wchodzących w skład nanocząstek funkcjonalnych mogą to być układy: i) nieorganiczno-nieorganiczne (np. nanocząstki metaliczne funkcjonalizowane krzemionką czy tlenkiem cyny (IV) [11]); ii) organiczno-organiczne (np. funkcjonalizowane dendrymery, liposomy, nanocząstki polimerowe), oraz iii) organiczno-nieorganiczne (np. nanocząstki złota funkcjonalizowane tiolami). **Ja w swoich badaniach skupiłam się na nanocząstkach organiczno-nieorganicznych składających się z nieorganicznego rdzenia metalicznego oraz zaadsorbowanego na jego powierzchni organicznego modyfikatora.**

Podejście do nanocząstek jako układów hybrydowych (nieorganiczny rdzeń oraz organiczna warstwa modyfikatora na powierzchni) sprawia, iż konieczne jest: i) opracowanie powtarzalnych procedur wytwarzania nanocząstek o określonej morfologii; ii) opracowanie odpowiednich procedur ich funkcjonalizacji oraz iii) zastosowanie technik pomiarowych umożliwiających ich pełną charakterystykę, dotyczącą zarówno struktury rdzenia (kształt, rozmiar, rozrzut wielkości), jak i modyfikatora znajdującego się na powierzchni tego rdzenia (potwierdzenie obecności oraz określenie ilości modyfikatora). Tylko w przypadku wytwarzania nanocząstek o ściśle określonym kształcie, rozmiarze, rozrzucie wielkości oraz odpowiedniej ich funkcjonalizacji, połączonej z pełną i precyzyjną charakterystyką fizykochemiczną, możliwe jest świadome i odpowiedzialne wykorzystanie tych hybrydowych układów jako materiałów funkcjonalnych.



Szeroki wachlarz unikalnych właściwości nanocząstek funkcjonalnych oraz szerokie spektrum możliwości ich wykorzystania skłania naukowców do poszukiwania nowych metod wytwarzania oraz funkcjonalizacji nanocząstek, jak również metod ich charakteryzowania, pozwalających określić i kontrolować ilość związku funkcyjnego znajdującego się na powierzchni pojedynczej nanocząstki. Wiedza na temat funkcjonalizacji i charakterystyki nanocząstek umożliwia świadome ich projektowanie i wykorzystanie jako hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanomateriałów funkcjonalnych.

#### 4.3.2. Cel badań realizowanych w ramach habilitacji

Celem moich badań naukowych opisanych w pracach zgłoszonych do postępowania habilitacyjnego [H1-H11] i stanowiących osiągnięcie naukowe było zaprojektowanie, wytworzenie oraz scharakteryzowanie hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych do szerokiego spektrum zastosowań - od układów elektronicznych aż do aplikacji biomedycznych.

Realizacja zamierzonego celu wymagała podjęcia badań w następujących obszarach:

1. opracowanie procedur wytwarzania stabilnych funkcjonalnych nanocząstek złota w rozpuszczalnikach niepolarnych oraz opracowanie metod funkcjonalizacji umożliwiających kształtowanie rozkładu nanocząstek na powierzchni i wewnątrz elementów hybrydowych organiczno-nieorganicznych układów elektronicznych [H1-H5]
2. wytworzenie hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych do zastosowań biomedycznych poprzez immobilizację białek antyoksydacyjnych (katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej) na powierzchni nanocząstek złota i srebra [H6, H8, H9, H11]
3. opracowanie procedury funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych związkami pochodzenia naturalnego zapewniającymi nanocząstkom stabilność koloidalną oraz wykazującymi aktywność biologiczną [H7, H10]
4. dobór technik oraz wykonanie pełnej charakterystyki fizykochemicznej hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych [H1-H11] oraz opracowanie protokołu analitycznego w oparciu o metodę elektroforezy żelowej umożliwiającego określenie ilości białka zaadsorbowanego na pojedynczej nanocząstce [H6, H8, H9, H11].

#### 4.3.3. Hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne do zastosowań w układach elektronicznych [H1-H5]

Głównym celem prac [H1-H5] było opracowanie procedur wytwarzania stabilnych w czasie funkcjonalnych nanocząstek złota, które mogłyby zostać wykorzystane do wytwarzania elementów elektronicznych układów pamięci. Ta część badań realizowana była w ramach międzynarodowego projektu badawczego finansowanego przez Unię Europejską z 7 Programu Ramowego pt. "Hybrid organic/inorganic memory elements for integration of electronic and photonic circuitry" oraz Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego pt. "Hybrydowe organiczno/nieorganiczne elementy pamięci wykorzystujące zintegrowane układy elektroniczne i fotoniczne".

Doniesienia literaturowe jasno wskazują i potwierdzają możliwości wykorzystania nanocząstek metalicznych w elementach układów pamięci [12-17, 18, 19], w których zwiększają one wydajność pracy urządzeń głównie poprzez pułapkowanie ładunku [15-17] lub tworzenie filamentów [18, 19]. Istnieją trzy główne drogi umożliwiające wprowadzenie nanocząstek do elementów hybrydowych układów pamięci: i) fizyczne osadzanie

nanocząstek na elementach układów pamięci przez naporowywanie; ii) osadzanie nanocząstek z wodnych koloidów na odpowiedni element bez bezpośredniego kontaktu rozpuszczalnika (wody) z powierzchnią podłoża; iii) nanoszenie tuszy polimerowych na bazie niepolarnych rozpuszczalników zawierających odpowiednio sfunkcjonalizowane nanocząstki na elementach układów pamięci z zachowaniem ich struktury metodą spin-coating czy poprzez drukowanie. **W każdym przypadku, zastosowanie odpowiednio sfunkcjonalizowanych monodispersyjnych nanocząstek o dobrze zdefiniowanym rozmiarze i bardzo wąskim rozkładzie wielkości jest kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania hybrydowej warstwy wchodzącej w skład elementu układu pamięci.**

Bezpośrednie wykorzystanie wodnych koloidów nanocząstek metalicznych w elementach układów pamięci jest niestety niemożliwe, ponieważ polarne rozpuszczalniki powodują uszkodzenie struktury powierzchni takich elementów. Większość znanych i dobrze opisanych procedur syntezy nanocząstek metalicznych prowadzona jest jednak w wodzie [20]. Tak wytworzone koloidy nanocząstek metalicznych nie mogą zostać bezpośrednio wykorzystane w przypadku organiczno-nieorganicznych układów elektronicznych. Zatem, zastosowanie nanocząstek metalicznych w urządzeniach elektronicznych wymaga opracowania procedur otrzymywania stabilnych nanocząstek w rozpuszczalnikach powszechnie stosowanych w urządzeniach elektronicznych: tj. toluen [H1, H2] [21], benzoesan metylu [21] dichlorobenzen [22], n-heksan, octan etylu itp.

Strategie wytwarzania hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych w rozpuszczalnikach niepolarnych można podzielić na dwie główne kategorie: i) funkcjonalizacja nanocząstek na etapie ich wytwarzania w niepolarnych rozpuszczalnikach [H4] oraz ii) funkcjonalizacja nanocząstek po syntezie i transfer międzyfazowy nanocząstek z wody do rozpuszczalnika niepolarnego [H1, H2, H5]. Funkcjonalizacja nanocząstek przeprowadzana w procesie wytwarzania nanocząstek w niepolarnym rozpuszczalniku wymaga dobrania warunków procesu syntezy, tak aby w tych określonych warunkach otrzymać stabilne nanocząstki o określonej i zamierzonej morfologii. Metoda ta znana jest jako metoda Brust-Schiffrina [23, 24, 25] i polega na redukcji jonów złota do złota metalicznego borowodorkiem sodu w obecności tiolu, który zapewnia hydrofobowy charakter i stabilność wytwarzanym nanocząstkom w rozpuszczalniku niepolarnym. Ta strategia jest wykorzystywana do wytwarzania małych nanocząstek (2-5 nm) w temperaturze pokojowej w rozpuszczalnikach niepolarnych z wykorzystaniem głównie związków tiolowych. Drugą strategią wytwarzania funkcjonalnych nanocząstek w niepolarnych rozpuszczalnikach jest proces transferu międzyfazowego nanocząstek z wody do rozpuszczalników niepolarnych [26, 27, 28, 29]. W procesie transferu międzyfazowego nanocząstki są wytwarzane w wodzie, według opracowanych i powtarzalnych procedur, a następnie w układzie koloidalnym są funkcjonalizowane hydrofobowym ligandem (tiole [23-25], aminy [26], kwasy dialkyloditiofosforowe [28]) zapewniającym im stabilność w niepolarnym rozpuszczalniku (toluen, heksan, chloroform itd.). Proces transferu międzyfazowego daje możliwość nie tylko otrzymania nanocząstek w niepolarnym rozpuszczalniku, ale także stanowi skuteczny sposób funkcjonalizacji nanocząstek hydrofobowym ligandem. **Proces funkcjonalizacji nanocząstek poprzez transfer międzyfazowy nanocząstek z wody do rozpuszczalników niepolarnych jest znany i został opisany w literaturze, jednakże zauważalny jest brak systematycznych badań wskazujących jak rodzaj modyfikatora i jego budowa strukturalna wpływają na efektywność procesu międzyfazowego nanocząstek o różnych rozmiarach.**

#### **4.3.3.1. Funkcjonalizacja nanocząstek w celu transferu międzyfazowego nanocząstek z koloidów wodnych do rozpuszczalników niepolarnych [H1, H2, H5] [21]**

Pierwszym etapem moich prac było opracowanie procedury wytwarzania stabilnych nanocząstek złota funkcjonalizowanych związkami tiolowymi w niepolarnym rozpuszczalniku (toluen), która została opisana w pracy [H2]. Do funkcjonalizacji zastosowano tiole o różnej długości łańcucha węglowego zawierającego od 10 do 18 atomów węgla (1-dekanotiol, 1-dodekanotiol, 1-tetradekanotiol, 1-oktadekanotiol) oraz różnej sterycznej

dostępności grupy funkcyjnej (1-dekanotiol oraz 1,1-dimetylodekantiole) i określono efektywność transferu międzyfazowego nanocząstek złota z wody do toluenu [H2]. Do funkcjonalizacji wykorzystano kuliste nanocząstki złota wytworzone metodą redukcji chemicznej w wodzie. Średni rozmiar rdzenia metalicznego wynosił:  $d_{\text{TEM}} = 3,5 \pm 1,2$  nm (rozmiar zmierzony techniką TEM), średnica hydrodynamiczna  $d_{\text{H-DLS}} = 9 \pm 2$  nm (rozmiar zmierzony techniką DLS), maksimum pasma absorpcji  $\lambda_{\text{max}} = 521$  nm (spektroskopia UV-vis). Funkcjonalizację nanocząstek związkami tiolowymi prowadzono na drodze wymiany ligandu w procesie transferu międzyfazowego nanocząstek z fazy wodnej do fazy organicznej. Z wykorzystaniem spektroskopii UV-vis oraz techniki DLS potwierdzono skuteczność funkcjonalizacji nanocząstek złota związkami tiolowymi. Po procesie funkcjonalizacji zaobserwowano przesunięcie położenia maksimum pasma absorpcji z  $\lambda_{\text{max}} = 521$  nm dla wodnego koloidu AuNPs do  $\lambda_{\text{max}} = 509$  nm,  $\lambda_{\text{max}} = 511$  nm oraz  $\lambda_{\text{max}} = 513$  nm dla AuNPs w toluenie modyfikowanych odpowiednio 1-dekanotiolem, 1-dodekanotiolem i 1-tetradekantiolem. Przesunięcie  $\lambda_{\text{max}}$  związane jest ze zmianą otoczenia nanocząstek na skutek wymiany ligandu na powierzchni nanocząstki (kompleks cytrynian-kwas taninowy wymieniony na tiol) oraz zmiany współczynnika załamania światła otaczającego środowiska - zmiana rozpuszczalnika z wody na toluen. Ponadto, zaobserwowano, przesunięcie położenia  $\lambda_{\text{max}}$  w kierunku dłuższych wartości długości fali wraz ze wzrostem długości łańcucha węglowego modyfikatora (od C10 do C14), co jest związane ze wzrostem grubości powłoki modyfikatora na powierzchni nanocząstek. Badania DLS wykazały zmianę średnicy hydrodynamicznej nanocząstek po funkcjonalizacji tiolami:  $d_{\text{H-DLS}} = 9 \pm 2$  nm dla wodnych AuNPs;  $d_{\text{H-DLS}} = 4 \pm 1$  nm dla AuNPs modyfikowanych 1-dekanotiolem oraz  $d_{\text{H-DLS}} = 6 \pm 1$  nm w przypadku AuNPs modyfikowanych 1-dodekanotiolem i 1-tetradekantiolem związane ze zmianą składu warstwy podwójnej na powierzchni nanocząstki.

Przeprowadzone badania wykazały, że stabilne koloidy w toluenie otrzymano w przypadku funkcjonalizacji nanocząstek złota tiolami o długości łańcucha węglowego odpowiednio C10, C12 oraz C14 (1-dekanotiol, 1-dodekanotiol oraz 1-tetradekantiole) [H2]. Ponadto, stwierdzono że funkcjonalizacja nanocząstek złota związkami tiolowymi o długości łańcucha węglowego od 10 do 14 atomów węgla zapewnia skuteczną stabilizację koloidalną nanocząstek złota w toluenie przez kilka miesięcy. Wykazano również, że nanocząstki funkcjonalizowane tymi tiolami są stabilne po odparowaniu do sucha i ponownym rozpuszczaniu w toluenie [H2]. Jednocześnie, przeprowadzone prace badawcze, wykazały, że w przypadku 1,1-dimetylodekantiole i 1-oktadekantiole funkcjonalizacja na drodze transferu międzyfazowego nie umożliwiła wytworzenia stabilnych nanocząstek złota w toluenie. Długie łańcuchy węglowodorowe 1-oktadekantiole (18 atomów węgla) uniemożliwiają utworzenie dobrze upakowanej monowarstwy na powierzchni nanocząstek determinującej ich stabilność koloidalną. To z kolei powoduje, iż rozmieszczenie łańcuchów cząsteczek modyfikatora na powierzchni nanocząstek jest nieuporządkowane (przypadkowe lub chaotyczne) lub niektóre łańcuchy alkilowe mogą być wygięte, co powoduje, że powierzchnia nanocząstek nie jest właściwie zabezpieczona przed aglomeracją i nanocząstki są niestabilne w niepolarnym rozpuszczalniku. Przeprowadzone badania wykazały również, że dostępność steryczna grup funkcyjnych tioli ma duży wpływ na efektywność procesu funkcjonalizacji nanocząstek złota na drodze transferu międzyfazowego z wody do toluenu [H2]. Zastosowanie dwóch tioli mających taką samą długość łańcucha węglowodorowego, ale różniących się grupami funkcyjnymi przy atomie siarki (1-dekanotiol oraz 1,1-dimetylodekantiole) pozwoliło wykazać, jak zawada przestrzenna cząsteczki modyfikatora przy grupie czołowej wpływa na proces transferu międzyfazowego nanocząstek złota z wody do toluenu. W cząsteczce 1-dodekanantiole atom siarki znajduje się obok dwóch atomów wodoru, natomiast w cząsteczce 1,1-dimetylodekantiole obok dwóch grup metylowych. Grupa metylowa jest znacznie większa w porównaniu z małym atomem wodoru, zatem dostępność steryczna atomu siarki do powierzchni złota w procesie funkcjonalizacji jest utrudniona w przypadku 1,1-dimetylodekantiole w porównaniu z 1-dodekanotiolem. Funkcjonalizacja nanocząstek złota na drodze transferu międzyfazowego 1-dodekanotiolem umożliwiła wytworzenie stabilnych nanocząstek w toluenie. W przypadku 1,1-dimetylodekantiole nanocząstki aglomerowały na granicy faz woda-toluen, co wskazuje na fakt zajęcia funkcjonalizacji i częściowo hydrofobowy charakter nanocząstek, jednakże warstwa tiolu na powierzchni złota

nie jest dostatecznie upakowana, aby zapewnić nanocząstkom stabilność koloidalną w toluenie. W konsekwencji dochodzi do połączeń metalicznych pomiędzy nanocząstkami, utworzenia konglomeratów i utraty stabilności koloidalnej nanocząstek [H2].

Podsumowując tą część badań, w pracy [H2] wykazano, że proces transferu fazowego nanocząstek złota o średnicy rdzenia metalicznego  $d_{\text{TEM}} = 3,5 \pm 1,2$  nm z wody do toluenu, umożliwia wytworzenie stabilnych w czasie nanocząstek złota funkcjonalizowanych tiolami alifatycznymi o długości łańcucha węglowego od C10 do C14. W przypadku tych związków tiolowych upakowanie i uporządkowanie cząsteczek modyfikatora na powierzchni nanocząstki zabezpiecza odpowiednio powierzchnię metaliczną zapewniając hydrofobowy charakter nanocząstkom, a w konsekwencji stabilność koloidalną w niepolarnym rozpuszczalniku. Ponadto, wykazano również, że proces transferu międzyfazowego nanocząstek złota nie jest możliwy w przypadku tioli o długich łańcuchach alkilowych (C18), gdyż ich uporządkowanie na powierzchni metalicznej nanocząstki nie jest wystarczające do wytworzenia zwartej i dobrze upakowanej warstwy stabilizatora, a w konsekwencji zapewnienia stabilności koloidalnej nanocząstkom. W pracy [H2] określono również wpływ sterycznej dostępności grupy funkcyjnej związków tiolowych na efektywność funkcjonalizacji nanocząstek złota na drodze transferu międzyfazowego i wykazano, że obok długości łańcucha węglowodorowego cząsteczki tiolu, dostępność przestrzenna grupy funkcyjnej jest kluczowym czynnikiem determinującym skuteczność procesu funkcjonalizacji nanocząstek złota zawiązkami hydrofobowymi prowadzący do wytwarzania stabilnych koloidów nanocząstek metalicznych w niepolarnych rozpuszczalnikach wykorzystywanych do wytwarzania elementów układów elektronicznych.

Kolejną grupą związków chemicznych, którą wykorzystałam do funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych na drodze transferu międzyfazowego w celu uzyskania stabilnych hydrofobowych nanocząstek w niepolarnym rozpuszczalniku są aminy alifatyczne [H1]. Badania przeprowadziłam z wykorzystaniem drugorzędowych amin alifatycznych o długości łańcucha węglowodorowego odpowiednio: i) C8 - dioktyloamina ( $\text{C}_8\text{H}_{17}$ )<sub>2</sub>NH; ii) C12 - didodecylamina ( $\text{C}_{12}\text{H}_{25}$ )<sub>2</sub>NH; iii) C18 - dioctadecylamina ( $\text{C}_{18}\text{H}_{35}$ )<sub>2</sub>NH oraz nanocząstek kulistych o trzech różnych rozmiarach: 5 nm, 9 nm oraz 13 nm. Nanocząstki zostały wytworzone metodą redukcji chemicznej w wodzie i scharakteryzowane z wykorzystaniem technik: TEM, SAXS, DLS oraz UV-vis. Średni rozmiar rdzenia metalicznego nanocząstek wynosił:  $d_{\text{TEM-1}} = 5 \pm 1$  nm;  $d_{\text{TEM-2}} = 9 \pm 2$  nm oraz  $d_{\text{TEM-3}} = 13 \pm 1$  nm,  $d_{\text{SAXS-1}} = 4,0 \pm 1,0$  nm,  $d_{\text{SAXS-2}} = 8,0 \pm 0,5$  nm oraz  $d_{\text{SAXS-3}} = 13,1 \pm 0,1$  nm, średnica hydrodynamiczna odpowiednio:  $d_{\text{DLS-1}} = 9 \pm 2$  nm,  $d_{\text{DLS-2}} = 15 \pm 3$  nm oraz  $d_{\text{DLS-3}} = 18 \pm 3$  nm, natomiast maksimum pasma absorpcji zarejestrowano przy długościach fali odpowiednio:  $\lambda_{\text{max-1}} = 521$  nm,  $\lambda_{\text{max-2}} = 529$  nm oraz  $\lambda_{\text{max-3}} = 518$  nm [H1]. W celu określenia wpływu ilości modyfikatora na wydajność procesu transferu międzyfazowego nanocząstek złota z wody do toluenu funkcjonalizację nanocząstek prowadzono wykorzystując do modyfikacji odpowiednio 5, 10, 20, 50 oraz 100 cząsteczek odpowiedniej drugorzędowej aminy na 1nm<sup>2</sup> powierzchni nanocząstki dostępnej do modyfikacji.

Analiza uzyskanych wyników eksperymentalnych opisanych w pracy [H1] wykazała, że najbardziej efektywny proces przeniesienia fazowego nanocząstek złota z wody do toluenu zaobserwowano w przypadku dioctadecylaminy w porównaniu z dioktyloaminą i didodecylaminą. W przypadku wszystkich drugorzędowych amin alifatycznych zaobserwowano wzrost wydajności procesu funkcjonalizacji nanocząstek złota wraz ze wzrostem ilości modyfikatora użytego do modyfikacji. Uzyskane wyniki prac badawczych, wykazały, że funkcjonalizacja nanocząstek złota dioktyloaminą zbudowaną z dwóch łańcuchów węglowodorowych C8 nie umożliwia wytworzenia stabilnego koloidu nanocząstek w toluenie. Funkcjonalizacja nanocząstek złota didodecylaminą (dwa łańcuchy węglowodorowe C12) zapewniła efektywny transfer międzyfazowy oraz stabilizację w toluenie jedynie w przypadku najmniejszych nanocząstek o rozmiarze 5 nm. Stopień upakowania amin alifatycznych na powierzchni nanocząstek złota o długości łańcuchów węglowodorowych C8 oraz C12 oraz grubość tej warstwy są wystarczające aby zabezpieczyć jedynie nanocząstki o rozmiarze 5 nm przed aglomeracją, ale niewystarczające, aby zapewnić im odpowiednią stabilizację w toluenie. Łańcuchy węglowodorowe C8 i C12 pochodzące z amin zaadsorbowanych na różnych nanocząstkach „wnikają” w strukturę warstwy organicznej

sąsiadującej nanocząstki na określoną odległość. To z kolei, zmniejsza odległość między nanocząstkami, zwiększając w ten sposób oddziaływania pomiędzy rdzeniami metalicznymi nanocząstek prowadząc do utraty ich stabilności, a w konsekwencji do powstania agregatów, których stabilizacja w toluenie z użyciem dioktyloaminy i didodecyloaminy nie jest możliwa. Warstwa organiczna aminy zabezpieczająca nanocząstki złota przed aglomeracją i zapewniająca odpowiednią stabilizację, musi być dostatecznie zwarta i dobrze upakowana aby oddzielić dwa metaliczne rdzenie na określoną odległość, która uniemożliwi kontakt metaliczny. Siły przyciągania między metalicznymi rdzeniami nanocząstek (oddziaływania van der Waalsa) są silniejsze niż oddziaływania van der Waalsa między łańcuchami węglowodorowymi amin zaadsorbowanych na powierzchni nanocząstki. Prowadzi to do metalicznych kontaktów między nanocząstkami w przypadku funkcjonalizacji aminami o krótszych łańcuchach węglowodorowych (C8 oraz C12), gdzie grubość warstwy organicznej jest zbyt mała, aby zabezpieczyć nanocząstki. Tylko w przypadku zastosowania do funkcjonalizacji dioktadecyloaminy uzyskano stabilne koloidy nanocząstek złota o rozmiarach rdzenia metalicznego odpowiednio 5 nm, 9 nm oraz 13 nm na drodze transferu międzyfazowego. Długie łańcuchy węglowodorowe C18 w strukturze dioktadecyloaminy tworzą zwartą hydrofobową warstwę na powierzchni nanocząstek złota zapewniającą odpowiednią stabilność i dyspersję w toluenie [H1]. Jednocześnie skuteczność tworzenia trwałych oddziaływań van der Waalsa między łańcuchami jest większa w przypadku dioktadecyloaminy z dwoma długimi łańcuchami alkilowymi niż w przypadku dioktyloaminy czy didodecyloaminy. Warstwa aminowa zaadsorbowana na powierzchni nanocząstek jest zatem silnie upakowana i nieprzepuszczalna w przypadku dioktadecyloaminy. W związku z tym, proces penetracji rozpuszczalnika oraz innych łańcuchów alkilowych z amin zaadsorbowanych na powierzchni innych nanocząstek znajdujących się w koloidzie zachodzi wewnątrz ochronnej warstwy organicznej tylko na taką odległość, która nie powoduje utraty stabilności nanocząstek [H1].

Podsumowując, w pracy [H1] po raz pierwszy opisano proces funkcjonalizacji nanocząstek złota na drodze transferu międzyfazowego z wykorzystaniem drugorzędowych amin alifatycznych o długości łańcucha węglowodorowego C8-C18. Najważniejszym osiągnięciem uzyskanym w trakcie przeprowadzonych badań opisanych w pracy [H1] jest wykazanie oraz określenie wpływu struktury cząsteczki aminy drugorzędowej o długości łańcucha węglowodorowego od C8 do C18 na efektywność transferu międzyfazowego nanocząstek złota z wody do toluenu. W pracy wykazano również wpływ ilości cząsteczek modyfikatora przypadających na jednostkę powierzchni nanocząstki na wydajność procesu transferu międzyfazowego. Dodatkowo, opisana w pracy [H1] procedura funkcjonalizacji nanocząstek złota didodecyloaminą poprzez transfer międzyfazowy nanocząstek z wody do niepolarnego rozpuszczalnika (anizol) została wykorzystana do przygotowania funkcjonalnych tuszy polimerowych użytych do wytwarzania elementów układów pamięci w ramach realizacji międzynarodowego projektu HYMEC opisanych w pracy [P21].

#### 4.3.3.2. Funkcjonalizacja nanocząstek w procesie wytwarzania w rozpuszczalnikach niepolarnych [H4]

Dokładna kontrola nad właściwościami fizycznymi, chemicznymi i strukturalnymi nanocząstek ma kluczowe znaczenie dla rozszerzenia obszarów ich zastosowania, szczególnie w przypadku optoelektroniki. Przewodnictwo elektryczne między dwiema elektrodami w urządzeniu zależy od ładunku zmagazynowanego lub uwięzionego w nanocząstkach [29-31]. Rozmiar nanocząstek użytych do wytwarzania takich elementów determinuje z kolei mechanizm wychwytywania ładunku [32]. Stąd „jakość” nanocząstek zastosowanych w elementach układów elektronicznych - ich monodispersyjność wielkości i jednorodność kształtu - mają kluczowe znaczenie dla ich działania. **Dlatego też, aby w pełni wykorzystać unikalne właściwości nanocząstek w przypadku zastosowań w elektronicznych układach pamięci niezwykle ważne jest opracowanie powtarzalnych metod przygotowania wysoce monodispersyjnych nanocząstek o zdefiniowanym i w pełni kontrolowanym kształcie i rozmiarze w niepolarnym rozpuszczalniku.**

Rozmiar nanocząsteczek można kontrolować poprzez odpowiednie dostosowanie warunków procesu ich wytwarzania (skład chemiczny rozpuszczalnika, rodzaj reagentów i ich stężenie, temperatura reakcji itd.). Niezwykle istotnym w przypadku wytwarzania nanocząstek jest szybkość oraz sposób wprowadzania reagentów do mieszaniny reakcyjnej: i) sposób ciągły; ii) progresywny; iii) kropla po kropli; iv) ze stałym lub zmiennym natężeniem przepływu itp. **W pracy [H4] przedstawiona została procedura wytwarzania mono-modalnych kulistych nanocząstek złota funkcjonalizowanych oktadecyloaminą metodą redukcji chemicznej bezpośrednio w niepolarnym rozpuszczalniku w temperaturze pokojowej.**

Funkcjonalne nanocząstki złota w niepolarnym rozpuszczalniku opisane w pracy [H4] wytworzone zostały z wykorzystaniem metody redukcji chemicznej wspomaganej techniką elektrorozpylania, którą zastosowano do wprowadzenia reagentów do mieszaniny reakcyjnej. Technika elektrorozpylania polega na rozpylaniu pod ciśnieniem atmosferycznym cieczy z igły, do której przyłożono wysokie napięcie. Różnica potencjałów między dyszą a uziemioną przeciwelektrodą powoduje powstanie menisku w postaci stożka, z którego w polu elektrycznym następuje rozpylanie cieczy o wielkości pojedynczych kropeł rzędu kilkudziesięciu nanometrów [18]. Generowane krople są silnie naładowane, co zapobiega ich aglomeracji i zapewnia odpowiednią dyspersję. Ładunek i wielkość kropeł można regulować prędkością przepływu cieczy oraz napięciem przyłożonym do dyszy. Technikę elektrorozpylania zastosowano do wprowadzenia roztworu prekursora do mieszaniny reakcyjnej zawierającej reduktor i stabilizator w niepolarnym rozpuszczalniku. Otrzymane wyniki porównano z metodą powszechnie stosowaną do wytwarzania monodispersyjnych nanocząstek, gdzie odpowiednie reagenty wprowadzane są w sposób kontrolowany do mieszaniny reakcyjnej poprzez kapilarę [H4].

Precyzyjna charakterystyka koloidów nanocząstek złota funkcjonalizowanych oktadecyloaminą w cykloheksanie wykazała istotne różnice w rozmiarze wytwarzanych nanocząstek w zależności od metody zastosowanej do wprowadzania reagentów do mieszaniny reakcyjnej [H4]. W przypadku zastosowania kapilary do wprowadzania reagentów otrzymano kuliste bi-modalne nanocząstki o średnim rozmiarze rdzenia metalicznego odpowiednio:  $d_{STEM} = 4.4 \pm 0.6$  nm oraz  $10.9 \pm 1.4$  nm (dwie populacje nanocząstek), oraz średnicy hydrodynamicznej  $d_{DLS} = 15$  nm  $\pm$  6 nm (wartość współczynnika polidispersyjności  $PdI = 0.210$ ). Wykorzystanie techniki elektrorozpylania do wprowadzania do mieszaniny reakcyjnej roztworu prekursora umożliwiło wytworzenie kulistych mono-modalnych nanocząstek złota o średnicy rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 5,7 \pm 0,5$  nm, średnicy hydrodynamicznej  $d_{DLS} = 12$  nm  $\pm$  2 nm (współczynnik polidispersyjności  $Pd = 0.096$ ) [H4]. Wykazano w ten sposób, że metoda wprowadzania prekursora do mieszaniny reakcyjnej determinuje morfologię nanocząstek syntetyzowanych metodą redukcji chemicznej w niepolarnym rozpuszczalniku. W przypadku przepływu kapilarnego roztwór prekursora jest wprowadzany do mieszaniny reakcyjnej strumieniem ciągłym, co powoduje (pomimo ciągłego mieszania), że lokalne stężenie reagentów w pobliżu dyszy kapilary jest wyższe niż w innych obszarach, co skutkuje przekroczeniem krytycznego poziomu przesylenia roztworu i rozpoczęciem powstawania zarodków krystalizacji. Krytyczny poziom przesylenia może być przekraczany wielokrotnie w trakcie takiej syntezy chemicznej z zastosowaniem ciągłego wprowadzania prekursora przez kapilarę, co prowadzi do wzrostu już istniejących nanocząstek, oraz do tworzenia nowych zarodków krystalizacji, a w konsekwencji, do otrzymania polidispersyjnych nanocząstek. Wykorzystanie techniki elektrorozpylania w procesie syntezy metodą redukcji chemicznej umożliwiło wprowadzenie bardzo małej i kontrolowanej objętości roztworu prekursora, w sposób równomierny w znacznie większej objętości mieszaniny reakcyjnej w porównaniu z metodą kapilarną. Takie wprowadzenie reagentów do mieszaniny reakcyjnej powoduje, że krytyczny poziom przesylenia prekursora osiągnąć jest tylko jeden raz i po jego przekroczeniu rozpoczyna się proces zarodkowania. Z kolei, proces dyfuzji zredukowanych atomów do klastrów metalicznych jest znacznie szybszy niż tworzenie nowych centrów zarodkowania, w wyniku czego, wprowadzenie kolejnych porcji prekursora powoduje wzrost już istniejących zarodków i tworzenie kulistych mono-modalnych nanocząstek ( $d_{STEM} = 5,7 \pm 0,5$  nm). Zastosowanie techniki elektrorozpylania jako metody wprowadzania roztworu prekursora do mieszaniny reakcyjnej umożliwiło wytworzenie hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek w postaci mono-modalnych nanocząstek złota funkcjonalizowanych hydrofobową oktadecyloaminą w cykloheksanie [H4].

Przeprowadzone badania opisane w pracy [H4] wykazały wpływ metody wprowadzania reagentów do mieszaniny reakcyjnej na rozmiar i rozrzut wielkości nanocząstek wytwarzanych metodą redukcji chemicznej w niepolarnym rozpuszczalniku. Udowodniono, że zastosowanie techniki elektrorozpylania umożliwia wprowadzenie do mieszaniny reakcyjnej bardzo małych i kontrolowanych ilości prekursora w sposób równomierny w dużej objętości mieszaniny reakcyjnej, dzięki czemu możliwe jest kontrolowanie procesów zarodkowania oraz wzrostu już istniejących zarodków i tworzenie kulistych mono-modalnych nanocząstek złota funkcjonalizowanych oktadecyloaminą w niepolarnym rozpuszczalniku.

#### 4.3.3.3. Kształtowanie rozmieszczenia nanocząstek w materiale [H3, H5]

Kolejnym ważnym zagadnieniem w przypadku wykorzystania nanocząstek funkcjonalnych w układach elektronicznych jest rozmieszczenie i rozkład przestrzenny nanocząstek wewnątrz matrycy polimerowej [H3, H5]. Kształtowanie rozkładu przestrzennego nanocząstek w elementach układów pamięci (w całej objętości lub w ściśle określonym miejscu w materiale) możliwe jest poprzez odpowiednią funkcjonalizację oraz/lub zastosowanie odpowiednich metod depozycji nanocząstek na podłożu stałym.

Funkcjonalizacja nanocząstek metalicznych połączona z właściwą ich depozycją umożliwią wykorzystanie wodnych koloidów do wprowadzenia nanocząstek metalicznych do elementów elektronicznych układów pamięci. Technika umożliwiającą depozycję nanocząstek na podłożach stałych jest technika elektrorozpylania, przedstawiona wcześniej jako metoda wprowadzania reagentów do mieszaniny reakcyjnej w pracy [H4]. Technika elektrorozpylania jest metodą stosowaną do osadzania cienkich warstw [33, 34], mikrosfer polimerowych oraz nanocząstek [33, 35] na stałych podłożach. **Brak jednak w literaturze doniesień dotyczących wykorzystania tej techniki do osadzania nanocząstek metalicznych na elementach urządzeń elektronicznych z koloidów wodnych.**

W pracy [H3] opisana została procedura przygotowania wodnych koloidów nanocząstek złota funkcjonalizowanych metoksy-PEG-tiolem ( $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ ) oraz wykorzystanie techniki elektrorozpylania do osadzania nanocząstek złota z wodnych koloidów na elementach układu pamięci bez kontaktu rozpuszczalnika z podłożem. Proces przygotowania funkcjonalnych nanocząstek złota obejmował wytworzenie nanocząstek metodą redukcji chemicznej w wodzie i następnie funkcjonalizację wytworzonych nanocząstek o rozmiarze  $d_{\text{STEM}}=13 \pm 1$  nm metoksy-PEG-tiolem ( $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ ,  $M_n=6000$ ). Proces funkcjonalizacji prowadzony był poprzez wymianę ligandu (wymiana anionu cytrynianowego na tiol), a następnie przygotowano alkozol do depozycji nanocząstek na podłożu stałe z wykorzystaniem techniki elektrorozpylania (mieszanina objętościowa woda:etanol=3:1; etanol w celu zmniejszenia napięcia powierzchniowego wody). Stabilność koloidalną AuNPs w alkozolu kontrolowano poprzez pomiar średnicy hydrodynamicznej nanocząstek z wykorzystaniem techniki DLS, która wzrosła z  $d_{\text{DLS}}=18 \pm 1$  nm dla nanocząstek stabilizowanych anionami cytrynianowymi do  $d_{\text{DLS}}=23 \pm 2$  nm modyfikowanych metoksy-PEG-tiolem. Dodatek etanolu do wodnego koloidu w stosunku objętościowym 1:3 nie spowodował żadnych zmian stabilności koloidalnej nanocząstek. Stabilne alkozole nanocząstek złota modyfikowane metoksy-PEG-tiolem zostały naniesione techniką elektrorozpylania na podłoża stałe – podłoża krzemowe oraz element rezystywnego układu pamięci – bez kontaktu rozpuszczalnika z powierzchnią podłoża. Stopień pokrycia podłoża stałego nanocząstkami w zakresie od kilku % do niemalże 100% kontrolowano poprzez zmiany czasu depozycji nanocząstek (od 30 min do 240 min). Dystrybucja nanocząstek oraz stopień pokrycia określone zostały z wykorzystaniem techniki SEM. Nanocząstki funkcjonalizowane metoksy-PEG-tiolem wykazywały równomierne rozmieszczenie na podłożu stałym. W przypadku dużych pokryć podłoża nanocząstkami wynoszących 94% powierzchni nie zaobserwowano tworzenia aglomeratów na powierzchni natomiast zaobserwowano powstawanie struktur meandrycznych, powstających na skutek oddziaływań przestrzennych między sąsiadującymi AuNP modyfikowanymi metoksy-PEG-tiolem. Analiza SEM powierzchni elementu rezystywnego układu pamięci z naniesionymi techniką elektrorozpylania nanocząstkami również potwierdziła obecność pojedynczych nanocząstek na powierzchni i nie

wykazała żadnych strukturalnych uszkodzeń materiału podłoża po procesie nanoszenia nanocząstek z alkozolu. Dowodzi to jasno, że rozpuszczalnik, w którym znajdowały się nanocząstki został odparowany podczas procesu nanoszenia, a nanocząstki zostały osadzone na podłożu w warunkach suchych (bez kontaktu rozpuszczalnika z podłożem).

Podsumowując tą część badań, w pracy [H3] po raz pierwszy opisano wykorzystanie techniki elektrorozpylania do osadzania nanocząstek metalicznych z wykorzystaniem alkozoli koloidów wodnych na podłożach wyjątkowo wrażliwych na obecność wody tj. elementy urządzeń elektronicznych. Wykazano, że zastosowanie techniki elektrorozpylania umożliwia osadzenie nanocząstek złota w postaci pojedynczej monowarstwy na podłożu stałym bez kontaktu rozpuszczalnika z powierzchnią podłoża oraz kształtowanie rozmieszczenia 2D nanocząstek ze stopniem pokrycia powierzchni nanocząstkami od pojedynczych % do niemalże 100% [H3]. Jednocześnie wykazano, że funkcjonalizacja nanocząstek złota metoksy-PEG-tiolem zapewnia homogeniczną dystrybucję nanocząstek na podłożach stałych od pojedynczych nanocząstek do monowarstwy. Dodatkowo opracowana procedura funkcjonalizacji nanocząstek oraz depozycji z wykorzystaniem techniki elektrorozpylania opisana w pracy [H3] została z powodzeniem wykorzystana do wprowadzenia funkcjonalnych nanocząstek złota na powierzchnię organicznego półprzewodnika N1400 stanowiącego element pamięci rezystywnej opartej na hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanokompozytach w ramach realizacji projektu HYMEC i jest opisana w pracy [36].

W pracy [H5] wykazano, że zastosowanie do funkcjonalizacji nanocząstek złota tiolu o odpowiedniej budowie strukturalnej umożliwia modulację ich ułożenia 3D w matrycy polimerowej stanowiącej element hybrydowych układów pamięci. Do funkcjonalizacji wykorzystano nanocząstki złota wytwarzane metodą redukcji chemicznej w wodzie o rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 5 \pm 1$  nm. Porównano rozkład nanocząstek złota funkcjonalizowanych odpowiednio: 1-dekanotiolem (tiol o krótkim łańcuchu węglowodorowym C10) oraz merkapto-polistyrenem (hydrofobowy polimer z grupą tiolową w pozycji terminalnej  $CNC_3H_6(C_8H_8)_nSH$ ,  $n \sim 105$ ,  $M_w = 11000$ ) na drodze wymiany ligandu w procesie transferu międzyfazowego nanocząstek wytworzonych w wodzie do toluenu [H5]. Ze względu na fakt, iż proces wymiany ligandu na powierzchni nanocząstek (wymiana kompleksu cytrynian-kwas taninowy na tiol) w przypadku dużej cząsteczki merkapto-polistyrenu jest procesem znacznie mniej dynamicznym i zachodzi znacznie wolniej niż w przypadku małej cząsteczki 1-dekanotiolu, co związane jest z różnicą w ruchliwości tych cząsteczek, jako czynnik wspomagający proces transferu międzyfazowego zastosowano aceton. Wprowadzenie do układu niewielkich ilości acetonu zmniejsza napięcie powierzchniowe między fazą wodną a fazą organiczną, dzięki czemu zwiększeniu ulega mieszalność faz, a tym samym proces wymiany cząsteczek ligandu na powierzchni AuNPs zachodzi łatwiej, co jest szczególnie istotne w przypadku dużej cząsteczki merkapto-polistyrenu. Po procesie funkcjonalizacji nanocząstek złota aceton został usunięty z koloidów, gdyż jako rozpuszczalnik polarny mógłby wpływać na nieprawidłowe funkcjonowanie elementu nośnika pamięci [H5].

Efektywność procesu funkcjonalizacji monitorowano z wykorzystaniem techniki DLS oraz spektroskopii UV-vis. Po funkcjonalizacji zaobserwowano przesunięcie maksimum pasma absorpcji z  $\lambda_{max} = 521$  nm dla wodnego koloidu AuNPs do  $\lambda_{max} = 517$  nm dla AuNPs-dekanotiol oraz  $\lambda_{max} = 531$  nm dla AuNPs-PS w toluenie. Średnica hydrodynamiczna nanocząstek po procesie funkcjonalizacji 1-dekanotiolem pozostała prawie niezmienniona ( $d_{DLS} = 8 \pm 2$  nm) w porównaniu z początkowym wodnym koloidem ( $d_{DLS} = 9 \pm 2$  nm). Z kolei średnica hydrodynamiczna AuNPs po funkcjonalizacji merkapto-polistyrenem wzrosła do  $d_{DLS} = 33 \pm 9$  nm. Zmiana ta związana jest z rozmiarem cząsteczki liganda znajdującego się na powierzchni nanocząstki - ligand merkapto-polistyrenowy ( $M_w = 11000$ ) jest znacznie większy w porównaniu z alifatycznym 1-dekanotiolem czy też kompleksem anion cytrynianowy-kwas taninowy stabilizującym nanocząstki w wodzie. Stąd, średnica hydrodynamiczna AuNP modyfikowanych ligandem polistyrenowym jest znacząco większa w porównaniu z pozostałymi ligandami. Stabilne hybrydowe nanocząstki złota funkcjonalizowane odpowiednio 1-dekanotiolem oraz merkapto-polistyrenem w toluenie, o stężeniu metalu odpowiednio 200 oraz 400 ppm, zostały następnie



wprowadzone do matrycy polistyrenowej celem wytworzenia tuszy polimerowych. Umożliwiło to określenie wpływu rodzaju modyfikatora na stopień i sposób dyspersji nanocząstek złota w matrycy polimerowej. Badania 2D z wykorzystaniem mikroskopii TEM wytworzonych materiałów, w postaci powłok polistyrenowych zawierających odpowiednio sfunkcjonalizowane nanocząstki, potwierdziły równomierny rozkład nanocząstek złota w przypadku obu tioli. Dyspersja pojedynczych AuNP sfunkcjonalizowanych 1-dekanotiolem wynosiła: 5300 nanocząstek/ $\mu\text{m}^2$  (stężenie 200 ppm) oraz 9300 nanocząstek/ $\mu\text{m}^2$  (stężenie 400 ppm). W przypadku AuNPs sfunkcjonalizowanych merkapto-polistyrenem dyspersja pojedynczych nanocząstek wynosiła: 625 nanocząstek/ $\mu\text{m}^2$  (stężenie 200 ppm) i 1000 nanocząstek/ $\mu\text{m}^2$  (stężenie 400 ppm). Badania wykazały również obecność konglomeratów w postaci heksagonalnie ułożonych struktur nanocząstek. W celu określenia rozkładu nanocząstek złota oraz identyfikacji potencjalnych aglomeratów w całej objętości materiału przeprowadzono badania matryc polimerowych z wykorzystaniem tomografii elektronowej 3D. Analiza 3D rozkładu przestrzennego nanocząstek w matrycy polimerowej wykazała gęstość rozkładu nanocząstek równą: 1750 nanocząstek/ $\mu\text{m}^3$  (stężenie 200 ppm) oraz 4200 nanocząstek/ $\mu\text{m}^3$  (stężenie 400 ppm) dla AuNPs sfunkcjonalizowanych 1-dekanotiolem, oraz 4000 nanocząstek/ $\mu\text{m}^3$  (stężenie 200 ppm) i 7200 nanocząstek/ $\mu\text{m}^3$  (stężenie 400 ppm) dla AuNPs sfunkcjonalizowanych merkapto-polistyrenem. Przeprowadzone badania wykazały również pionowe rozdzielanie – segregację – faz z jednorodną warstwą nanocząstek zlokalizowaną na granicy faz matryca polimerowa/podłoże i aglomeratów zawierających heksagonalnie ułożone nanocząstki bez połączeń metalicznych dla nanocząstek sfunkcjonalizowanych 1-dekanotiolem. Segregacja nanocząstek na granicy faz wskazuje na brak kompatybilności mieszania AuNPs sfunkcjonalizowanych 1-dekanotiolem z matrycą polistyrenową. Z kolei sfunkcjonalizacja nanocząstek złota merkapto-polistyrenem zapewniła równomierne rozmieszczenie nanocząstek w całej objętości matrycy polimerowej na skutek kompatybilności struktury cząsteczki modyfikatora nanocząstek- merkapto-polistyreneu z matrycą polistyrenową. Wykazano w ten sposób, że rodzaj modyfikatora użyty do sfunkcjonalizacji nanocząstek na drodze transferu międzyfazowego nanocząstek złota z wody do rozpuszczalników niepolarnych umożliwia kształtowanie rozkładu 2D oraz 3D nanocząstek w materiałach polimerowych stosowanych do wytwarzania elementów hybrydowych układów pamięci [H5].

Podsumowując, najważniejszym osiągnięciem uzyskanym w trakcie przeprowadzonych badań opisanych w pracy [H3] jest opracowanie procedury sfunkcjonalizacji nanocząstek złota związkami tiolowymi umożliwiającymi kształtowanie rozkładu rozmieszczenia nanocząstek w matrycy polimerowej. Dodatkowo wykazano, że kluczowym czynnikiem determinującym równomierny rozkład 3D nanocząstek metalicznych w matrycy polimerowej jest zastosowanie do sfunkcjonalizacji liganda kompatybilnego z matrycą polimerową. Sfunkcjonalizacja nanocząstek metalicznych ligandem o budowie strukturalnej podobnej do budowy polimeru stanowiącego matrycę zapewnia oddziaływanie prowadzące do homogenicznej dystrybucji nanocząstek w całej objętości materiału. Wykazano w ten sposób, kluczową rolę modyfikatorów powierzchni nanocząstek w kształtowaniu rozmieszczenia przestrzennego nanocząstek w matrycach polimerowych stosowanych do wytwarzania hybrydowych układów elektronicznych.

#### **4.3.4. Hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne do zastosowań biomedycznych [H6-H11]**

Kolejne moje prace badawcze związane z sfunkcjonalizacją nanocząstek metalicznych skupiły się na możliwościach ich wykorzystania w aplikacjach biomedycznych. Kluczowym parametrem wpływającym i kształtującym właściwości biologiczne nanocząstek są ligandy obecne na ich powierzchni, odpowiadające za bezpośrednie interakcje hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych ze środowiskiem biologicznym. Sposób sfunkcjonalizacji nanocząstek odpowiednim ligandem determinuje również internalizację nanocząstek – nanocząstka może zostać usunięta z organizmu zanim spełni swoją rolę, jeżeli zostanie rozpoznana przez organizm jako „zagrożenie”, lub może pozostać w organizmie i z powodzeniem spełnić zaplanowaną dla niej rolę.

Interakcje nanocząstek ze składnikami płynów biologicznych są procesami złożonymi i opartymi na różnego rodzaju oddziaływaniach. W płynach biologicznych nanocząstki oddziałują z fosfolipidami, białkami, DNA oraz małymi metabolitami. Fosfolipidy, jako główne składniki błon komórkowych, składają się z ujemnie naładowanej grupy fosforanowej (grupa czołowa) i hydrofobowego łańcucha węglowego (ogon). Nanocząstki mogą oddziaływać zarówno z naładowaną grupą czołową i/lub hydrofobowym fragmentem w zależności od hydrofobowości powierzchni nanocząstek. Nanocząstki mogą również wiązać cząsteczki DNA w układach biologicznych, głównie poprzez oddziaływania elektrostatyczne,  $\pi$ - $\pi$  oraz oddziaływania hydrofobowe. Ze względu na wysoką energię powierzchniową nanocząstki adsorbują również różne małe cząsteczki w układach biologicznych tj. węglowodany, witaminy, hormony, aminokwasy, które odgrywają zasadniczą rolę w sygnalizacji komórkowej oraz fizjologii komórki. Zmiana stężenia tych cząsteczek w otoczeniu, na skutek ich adsorpcji na powierzchni nanocząstek poprzez oddziaływania hydrofobowe,  $\pi$ - $\pi$  czy też oddziaływania elektrostatyczne, może wpływać na prawidłowe funkcje komórek. W kontakcie z płynami biologicznymi (np. krwią, płynem śródmiąższowym lub wydzielinami śluzówki) nanocząstki są modyfikowane białkami (tj. albumina, immunoglobuliny, fibrynogen), które mogą zmieniać ładunek powierzchniowy i właściwości nanocząstek, a w konsekwencji określać ich działanie oraz bio-dystrybucję.

W układach biologicznych interakcje na granicy faz nanocząstka-białko zachodzące na drodze tworzenia wiązań wodorowych, oddziaływań van der Waalsa, hydrofobowych, elektrostatycznych, jak również poprzez tworzenie wiązań chemicznych z resztami aminokwasowymi białek, prowadzą do wytworzenia tzw. „korony białkowej” na nanocząstkach. Zjawisko to występuje niezależnie od tego, czy nanocząstki są obecne w organizmie, czy w środowisku komórkowym. Takie „biologicznie zmodyfikowane nanocząstki” są rzeczywistymi uczestnikami oddziaływań nanomateriał-układ biologiczny, które warunkują internalizację nanocząstek. Należy jednak pamiętać, iż obecność nanocząstek w środowisku biologicznym powoduje, że nanocząstki mogą przechodzić złożoną sekwencję modyfikacji, które na ten moment są nadal dalekie od pełnego zrozumienia. Nawet w jednym środowisku interakcje białka z nanocząstką ulegają ciągłym zmianom, a interfejs nano-bio może zmieniać się w czasie ze względu na ciągłe procesy adsorpcji i desorpcji białek. W związku z tym nanocząstki wprowadzone do układu biologicznego należy traktować jako ewoluujące systemy, które są kształtowane przez sekwencyjną ekspozycję na różne środowiska bogate w białka. Jednakże, oddziaływania nanocząstek i białek należy postrzegać nie tylko jako niekorzystne, ponieważ funkcjonalizację nanocząstek białkami można również wykorzystać do kierowanej ich dystrybucji do określonych miejsc. Zatem, możliwe jest wykorzystanie korzystnych aspektów wiązania białek do powierzchni nanomateriałów oraz efektu tworzenia „korony białkowej” na ich powierzchni.

Odpowiedzialne wykorzystanie nanocząstek funkcjonalnych w zastosowanych biomedycznych wymaga poznania, wyjaśnienia i zrozumienia oddziaływań na granicy faz „nano-bio” pomiędzy powierzchnią nanocząstek a otoczeniem biologicznym. Niewielkie zmiany rozmiaru, kształtu, ładunku, grup funkcyjnych na powierzchni i składu chemicznego prowadzą do radykalnie różnych interakcji ze środowiskiem biologicznym. Te interakcje determinują następnie biokompatybilność, stabilność, działanie biologiczne i skutki uboczne działania nanocząstek. W związku z tym, zrozumienie interakcji pomiędzy nanocząstkami a związkami biologicznie aktywnymi oraz związków między właściwościami i strukturą nanocząstek a ich aktywnością biologiczną zapewni koncepcyjne podstawy racjonalnego projektowania i bezpiecznego stosowania funkcjonalnych nanocząstek.

Zagadnienia związane z procesami adsorpcji związków biologicznie aktywnych na nanocząstkach metalicznych zostały przedstawione w pracach [H6-H11]. Wytworzono i scharakteryzowano hybrydowe organiczno-nieorganiczne nanocząstki funkcjonalne w postaci nanocząstek złota i srebra funkcjonalizowanych białkami z grupy antyoksydaz – katalaza [H6, H8, H11] i dysmutaza ponadtlenkowa [H9] oraz związkami pochodzenia naturalnego z grupy flawonoidów [H7, H10] które znane są ze swojej aktywności biologicznej. Wykazano, że te układy hybrydowe mogą być z powodzeniem wykorzystane jako preparaty antywirusowe [37-P28], stymulatory układu immunologicznego w walce z wirusem opryszczki [38-P16, 39-P27] oraz

wspomagające procesy leczenia rany [40-P25, 41-P37]. Ten etap badań wymagał opracowania nowych, odmiennych metod funkcjonalizacji w porównaniu z opisanymi wcześniej oraz opracowania protokołu analitycznego umożliwiającego potwierdzenie obecności białka na powierzchni nanocząstki w sposób jakościowy oraz ilościowy [H6, H8, H11]. Tematyka funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych do zastosowań biomedycznych realizowana była w ramach dwóch projektów badawczych finansowanych z NCN w których pełniłam funkcję wykonawcy: i) „*Nanocząstki srebra koniugowane taninami - badania nad ich aktywnością regeneracyjną w zastosowaniach dermalnych*” oraz ii) *Analiza potencjału antyoksydacyjnego białek immobilizowanych na nanocząsteczkach. Badania in vitro, in vivo*”. Podjęta tematyka badawcza jest konturowana w ramach projektu NCN „*Sfunkcjonalizowane nanocząstki metali szlachetnych jako stymulatory odpowiedzi immunologicznej w zakażeniu herpeswirusem typu 1 i 2*”, którego realizacja obejmuje lata 2019-2021.

#### **4.3.4.1. Opracowanie protokołu analitycznego w oparciu o metodę elektroforezy żelowej umożliwiającego określenie ilości białka zaadsorbowanego na pojedynczej nanocząstce [H6]**

Wykorzystanie nanocząstek funkcjonalnych w zastosowaniach biologicznych wymaga zastosowania metod analitycznych umożliwiających potwierdzenie obecności oraz określenie ilości białka znajdującego się na nanocząstkach. Nie jest to jednak zadanie trywialne, gdyż zazwyczaj ilość tego związku jest niezwykle mała, zatem czułość stosowanych metod musi być niezwykle duża. W związku z tym, pierwszym etapem moich prac, związanych z wytwarzaniem hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych do zastosowań biomedycznych, było opracowanie protokołu analitycznego umożliwiającego potwierdzenie obecności oraz określenie ilości białka zaadsorbowanego na pojedynczej nanocząstce [H6].

Procedurą dobrze znaną i stosowaną od wielu lat do analizy białek jest elektroforeza w żelu poliakrylamidowym [42-44]. Metoda ta jest również stosowana do określania ilości białka zaadsorbowanego na nanocząstkach [42, 45]. Jednakże, opisane procedury są wieloetapowe, a ilość białka określana jest po wcześniejszym wyizolowaniu go z badanej próbki (desorpcja białka z powierzchni nanocząstek przy użyciu środków denaturujących) [45]. Konieczność elucji białka z powierzchni nanocząstek sprawia, że niemożliwe jest bezpośrednie monitorowanie interakcji między nanocząstką a białkiem. **W literaturze przedmiotu brakowało doniesień przedstawiających procedury określania ilości białek na powierzchni pojedynczej nanocząstki bez konieczności desorpcji białka z powierzchni nanocząstki z wykorzystaniem elektroforezy w żelu poliakrylamidowym.**

**W pracy [H6] po raz pierwszy opisano protokół analityczny umożliwiający określenie ilości białka znajdującego się na pojedynczej nanocząstce złota z wykorzystaniem elektroforezy żelowej bez konieczności elucji białka z powierzchni nanocząstki.** Podstawą procedury opisanej w pracy [H6] jest określenie ilości niezwiązanego białka po uprzedniej funkcjonalizacji nanocząstek (o znanej i ściśle określonej morfologii) nadmiarową jego ilością. Funkcjonalizację nanocząstek wykonuje się poprzez inkubację nanocząstek z nadmiarową, ale ściśle określoną, ilością białka. Następnie przeprowadzany jest rozdział elektroforetyczny na żelu poliakrylamidowym koloidów zawierających białko unieruchomione na nanocząstkach oraz białko niezwiązane. Podczas procesu elektroforezy obserwuje się migrację nanocząstek funkcjonalizowanych białkiem w żelu zagęszczającym, natomiast po wybarwieniu żeli metodą srebrową wykonywany jest pomiar densytometryczny białka niezwiązanego z nanocząstkami w żelu rozdzielającym. Poprzez porównanie intensywności prążków zawierających niezwiązane białko z intensywnością prążka o znanym stężeniu białka, stanowiącym próbkę odniesienia, obliczana jest ilość białka w analizowanym prążku. Znając ilość białka użytego do funkcjonalizacji oraz ilość białka niezwiązanego z nanocząstkami, jak również ilość nanocząstek w sztukach, które poddano funkcjonalizacji, obliczana jest ilość białka znajdująca się na pojedynczej nanocząstce.

Procedurę określania ilości białka na nanocząstce opisano na przykładzie układu: nanocząstka złota-katalaza w pracy [H6]. W celu określenia największej czułości metody oznaczania ilości białka proces elektroforezy został

wykonany na 10% żelu poliakrylamidowym przy zastosowaniu różnego składu chemicznego buforu do próbek. Elektroforezę przeprowadzono w warunkach: i) natywnych (bufor do próbek bez  $\beta$ -mercaptoethanolu, bez SDS-u); ii) nieredukujących (bufor do próbek z SDS-em, bez  $\beta$ -mercaptoethanolu); iii) z  $\beta$ -mercaptoethanolem (bufor do próbek bez SDS-u) oraz iv) redukujących (bufor do próbek z  $\beta$ -mercaptoethanolem oraz SDS-em). W każdym przypadku białko wizualizowane było z wykorzystaniem metody barwienia srebrem według zmodyfikowanej procedury Shevchenko opisanej w pracy [46]. Proces elektroforezy prowadzono dla nanocząstek złota niemodyfikowanych białkiem, nanocząstek złota modyfikowanych ściśle określoną ilością białka, odpowiadającą pokryciu: 5, 10, 15, 20 i 50 cząsteczek białka na 1 nanocząstkę złota oraz próbki odniesienia, którą stanowiło białko o znanym stężeniu. Proces funkcjonalizacji nanocząstek złota katalazą oraz stabilność koloidalna nanocząstek po funkcjonalizacji zostały potwierdzone z wykorzystaniem techniki DLS, gdzie zaobserwowano wzrost średnicy hydrodynamicznej nanocząstek z  $d_{DLS} = 19 \pm 2$  nm do  $d_{DLS} = 29 \pm 3$  nm po funkcjonalizacji katalazą, związany z adsorpcją białka na powierzchni nanocząstki. Proces modyfikacji nanocząstek złota katalazą nie zaburzył stabilności nanocząstek, a rozmiar rdzenia metalicznego po funkcjonalizacji nie zmienił się i wynosił  $d_{STEM} = 13 \pm 1$  nm. Zaobserwowano natomiast zmianę odległości między pojedynczymi nanocząstkami funkcjonalizowanymi katalazą po osadzeniu na siatce miedzianej pokrytej węglem, użytej do obrazowania nanocząstek techniką STEM, w porównaniu z nanocząstkami niemodyfikowanymi białkiem. Wzrost odległości pomiędzy pojedynczymi nanocząstkami spowodowany jest rozmiarem cząsteczek modyfikatora zaadsorbowanych na ich powierzchni. Małe aniony cytrynianowe znajdujące się na nanocząstkach skutecznie stabilizują elektrostatycznie nanocząstki zapobiegając procesowi aglomeracji. Z kolei, modyfikacja AuNPs dużymi cząsteczkami katalazy zapewnia nanocząstkom stabilność koloidalną głównie poprzez stabilizację steryczną, co skutkuje zwiększeniem odległości między pojedynczymi nanocząsteczkami po ich osadzeniu na podłożu stałym. Po procesie elektroforezy oraz wybarwianiu, intensywność prążków pochodzących od niezwiązanego białka porównano z intensywnością prążka pochodzącego od białka o znanym ściśle określonym stężeniu, który stanowił próbkę odniesienia. Najmniejsze ilości białka wykryto w przypadku zastosowania warunków oznaczania białka na drodze elektroforezy natywnej, gdzie obserwowano intensywne prążki od niezwiązanego białka dla pokrycia powierzchni od 15 do 50 cząsteczek białka na nanocząstce. Granica wykrywalności opisanej metody wynosiła w tym przypadku 1,5 ng białka dla natywnej elektroforezy i około 60 ng białka zarówno dla elektroforezy nieredukującej, jak i redukującej z SDS-em. Zatem czułość elektroforezy natywnej jest 40 razy większa niż w przypadku nieredukującej i redukującej z SDS-em. Wskazuje to, że obecność SDS-u obniża czułość detekcji białka. Ze względu na możliwość wykrywania pojedynczych ng białka metoda elektroforezy natywnej w 10% żelu poliakrylamidowym została wybrana do oznaczania ilościowego katalazy zaadsorbowanej na pojedynczej nanocząstce złota.

Oznaczenia stopnia obsadzenia nanocząstek złota o rozmiarze 13 nm katalazą przeprowadzono w zakresie od 5 do 50 cząsteczek białka na 1 nanocząstkę, co odpowiada zakresowi od 17 do 176 ng ilości białka. Sygnał od niezwiązanego białka odpowiadający 4,9 ng białka w prążku zaobserwowano dla modyfikacji odpowiadającej 15 cząsteczkom (51 ng) katalazy na 1 AuNP. Zastosowanie do modyfikacji mniejszej ilości białka (poniżej 15 cz/NP.) skutkowało brakiem sygnału od niezwiązanego białka (wszystkie cząsteczki białka zaadsorbowane na nanocząstkach). Dalsze zwiększanie ilości katalazy użytej do modyfikacji nanocząstek (powyżej 15 cz/NP.) skutkowało pojawieniem się sygnału od niezwiązanego białka, którego intensywność wzrastała wraz ze wzrostem ilości katalazy użytej do modyfikacji. W badanym zakresie stężeń katalazy dobrane warunki pomiarowe elektroforezy natywnej umożliwiły określenie średniego pełnego stopnia obsadzenia nanocząstki białkiem równego 55 ng białka, co odpowiada 16 cząsteczkom katalazy na 1 nanocząstkę złota

**Podsumowując, w pracy [H6] po raz pierwszy w literaturze opisano protokół analityczny umożliwiający określenie ilości białka na pojedynczej nanocząstce złota nie wymagający zastosowania żadnych procedur usuwania lub oddzielenia niezwiązanego białka z roztworu poprzez wirowanie czy stosowanie związków do desorpcji białka.** Opisany protokół analityczny jest jednocześnie metodą potwierdzającą efektywność funkcjonalizacji nanocząstek białkiem, gdyż jedynie biokonjugaty nanocząstka-białko migrują podczas procesu

rozdziálu elektroforetycznego (nanocząstki stabilizowane anionem cytrynianowym nie migrują w żelu), umożliwiając w ten sposób monitorowanie interakcji nanocząstka-białko (różna szybkość migracji koniugatów w zależności od ilości białka znajdującego się na powierzchni nanocząstki) oraz dająca możliwość określenia maksymalnego stopnia pokrycia nanocząstek białkiem. Jednocześnie przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie elektroforezy w żelu poliakrylamidowym do badania układów hybrydowych nanocząstka-białko zapewnia kontrolę nad wytwarzanym koniugatem i umożliwia świadome projektowanie i wytwarzanie hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalizowanych białkiem.

#### **4.3.4.2. Immobilizacja enzymów antyoksydacyjnych na nanocząstkach metalicznych [H6, H8, H9, H11]**

Mając dostępne narzędzie analityczne umożliwiające określenie oraz kontrolę ilości białka na pojedynczej nanocząstce, opisane w pracy [H6], rozpoczęłam prace badawcze związane z wytwarzaniem koniugatów poprzez immobilizację białek antyoksydacyjnych (katalaza i dysmutaza ponadtlenkowa) na nanocząstkach metalicznych (złoto i srebro) o różnych rozmiarach. Celem tej części badań było opracowanie metod immobilizacji białek na powierzchni nanocząstek bez utraty ich aktywności enzymatycznej [H8, H9, H11]. Prace rozpoczęłam od opracowania metody bezpośredniej immobilizacji białek na powierzchni nanocząstek złota i srebra na drodze adsorpcji fizycznej, w wyniku której, na powierzchni nanocząstek białka tworzą „koronę białkową” [H9, H11]. Takie podejście umożliwiło poznanie oraz zrozumienie mechanizmów adsorpcji białka na nanocząstkach złota i srebra oraz świadome zaprojektowanie i przeprowadzenie procesu funkcjonalizacji nanocząstek białkami bez utraty ich aktywności enzymatycznej.

Proces tworzenia korony białkowej na powierzchni nanocząstek jest procesem dynamicznym i determinowanym przez wiele czynników zarówno z punktu widzenia samej nanocząstki: rozmiar, kształt, rodzaj modyfikatorów na powierzchni; jak również cząsteczki białka: struktura chemiczna białka, powinowactwo do powierzchni nanocząstki, rozmiar, kształt, dostępność grup funkcyjnych. Zatem, koniugat nanocząstka-białka stanowi bardzo złożony, choć pozornie jedynie dwu-składnikowy przykład hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych. Należy jednak zwrócić uwagę, iż immobilizacja białek prowadzona jest przecież na nanocząstkach już funkcjonalizowanych np. związkami chemicznymi zapewniającymi im stabilność koloidalną. Zatem, w przypadku funkcjonalizacji nanocząstek do zastosowań biomedycznych zwiększa się złożoność wytwarzanych układów hybrydowych. Jednocześnie, adsorpcja białek na podłożu stałym jest procesem znacznie bardziej złożonym, gdy powierzchnia ma wymiary nanometrowe w porównaniu z makro-odpowiednikami. Względne pole powierzchni nanomateriałów jest bardzo duże, a rozmiary pojedynczych nanoobjektów są porównywane z rozmiarami białek (1–20 nm). W związku z tym, interakcje między białkami a materiałami w nanoskali i w makroskali są różne, zarówno pod względem ilościowym jak i jakościowym.

Białka mogą być unieruchamiane na nanocząstkach poprzez wytworzenie wiązań chemicznych lub na drodze adsorpcji fizycznej. Oddziaływania pomiędzy nanocząstkami a cząsteczką białka (wiązania wodorowe, siły van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne, oddziaływania hydrofobowe), warunkujące skuteczną immobilizację białka, wynikają zarówno z budowy samego białka jak również z właściwości fizykochemicznych nanocząstek. **Niewiele jednak było wiadomo, czy proces adsorpcji białka i tworzenie korony białkowej na powierzchni nanocząstek zależy od materiału rdzenia nanocząstki, jak zmienia się ten proces w zależności od składu chemicznego nanocząstek oraz jak metoda immobilizacji białka na nanocząstkach wpływa na jego aktywność enzymatyczną.**

W pracy [H11] wykazany został wpływ materiału rdzenia metalicznego na proces tworzenia „korony białkowej” na przykładzie immobilizacji katalazy na powierzchni nanocząstek złota i srebra o jednakowym kształcie i rozmiarze. Do funkcjonalizacji wykorzystano nanocząstki złota i srebra o kształcie kulistym i rozmiarze rdzenia

metalicznego zmierzonego techniką STEM wynoszącym  $d_{\text{STEM}} = 13 \pm 2$  nm. Średnica hydrodynamiczna zmierzona techniką DLS nanocząstek przed funkcjonalizacją wynosiła  $d_{\text{DLS}} = 17 \pm 1$  oraz  $d_{\text{DLS}} = 17 \pm 2$  nm odpowiednio dla AuNPs i AgNPs, natomiast potencjał zeta odpowiednio:  $\zeta_{\text{AuNPs}} = -36 \pm 1,5$  mV i  $\zeta_{\text{AgNPs}} = -51,5 \pm 0,8$  mV. Funkcjonalizację nanocząstek katalazą przeprowadzono na drodze inkubacji wodnego koloidu ze znaną i ściśle określoną ilością białka odpowiadającą: 5, 10, 15, 20, 30 oraz 40 cząsteczek katalazy na jedną nanocząstkę. Rozmiar metalicznego rdzenia nanocząstek po modyfikacji pozostał niezmienny, natomiast średnica hydrodynamiczna nanocząstek wzrosła z 17 nm do  $29 \pm 8$  nm oraz  $28 \pm 8$  nm odpowiednio dla AuNPs i AgNPs. Proces funkcjonalizacji nanocząstek katalazą został również potwierdzony spektroskopią UV-vis, gdzie zaobserwowano przesunięcie położenia maksimum pasma absorpcji po immobilizacji katalazy na nanocząstkach: z  $\lambda_{\text{max}} = 518$  nm do  $\lambda_{\text{max}} = 525$  nm dla AuNP oraz z  $\lambda_{\text{max}} = 403$  nm do  $\lambda_{\text{max}} = 408$  nm dla AgNPs.

Badania stopnia adsorpcji katalazy na nanocząstkach złota i srebra przeprowadzone z wykorzystaniem elektroforezy w żelu poliakrylamidowym zgodnie z protokołem analitycznym opisanym w pracy [H6] wykazały znaczące różnice w ilości białka zaadsorbowanego na pojedynczej nanocząstce złota i srebra, wskazując na istotne różnice w procesie tworzenia korony białkowej na nanocząstkach metalicznych [H11]. Obliczone na podstawie wyników uzyskanych z elektroforezy żelowej pełne pokrycie powierzchni nanocząstki katalazą w przypadku AuNPs o średnicy 13 nm wynosi około 15 cząsteczek. W przypadku nanocząstek srebra nawet przy niewielkich ilościach katalazy część białka jest adsorbowana na powierzchni nanocząstek, natomiast część jest obecna w roztworze (widoczne prążki od niezwiązanej katalazy dla wszystkich koniugatów bez względu na ilość białka użytego do funkcjonalizacji nanocząstki), co związane jest z procesami równowagowymi zachodzącymi w układzie koloidalnym nanocząstka srebra-katalaza. Jednocześnie, obecność wolnych jonów srebra w koloidzie (około 2 ppm) pochodzących z niecałkowitej redukcji jonów srebra w procesie wytwarzania nanocząstek oraz rozpuszczania nanocząstek srebra w wyniku jego utleniania [47, 48] powoduje tworzenie kompleksów  $\text{Ag}^+$ -katalaza [49, 50], które wpływają na zmiany w budowie strukturalnej katalazy zmieniając w ten sposób powinowactwo katalazy do powierzchni nanocząstek srebra, a w konsekwencji zdolność adsorpcji białka do nanocząstek srebra. W przypadku AgNPs katalaza jest luźno związana z powierzchnią nanocząstki, a wymiana na granicy nanocząstka-białko zachodzi w sposób ciągły, niezależnie od ilości białka użytego do modyfikacji. Ten stan równowagi pomiędzy białkiem adsorbowanym i niezaadsorbowanym determinuje ilość białka, jaką należy zastosować do modyfikacji w przypadku AgNPs, aby uzyskać takie samo pokrycie powierzchni jak w przypadku koniugatów AuNPs-CAT. Chociaż interakcje białka z nanocząstkami wydają się być dość słabe, ponieważ są to głównie oddziaływania elektrostatyczne oraz hydrofobowe, są one jednak wystarczająco silne, aby zmodyfikowane białkiem nanocząstki migrowały w żelu poliakrylamidowym podczas procesu elektroforezy.

Uzyskane wyniki badawcze opisane w pracy [H11] potwierdziły, że oddziaływania nanocząstek z białkami są bardzo dynamiczne, a proces tworzenia „korony białkowej” na powierzchni nanocząstek zależy od wymiany między białkami już związanymi powierzchniowo z nanocząstką a obecnymi w roztworze. Tworzenie tzw. „twardej korony białkowej” (ang. „*hard protein corona*”) charakteryzuje się wysokim powinowactwem białek do powierzchni nanocząstek, podczas gdy tworzenie tzw. „miękkiej korony białkowej” (ang. „*soft protein corona*”) cechuje mniejsze powinowactwo białek do powierzchni nanocząstek oraz szybka wymiana białek ze słabo związanymi zewnętrznymi warstwami białka znajdującego się na nanocząstkach. Wskazuje to, iż oddziaływania nanocząstka-białko charakteryzują się powinowactwem wiązania, stechiometrią oraz właściwościami kinetycznymi, a tworzenie korony białkowej na nanocząstkach jest procesem równowagowym, której skład jest zależny od ilości białka oraz szybkości adsorpcji i desorpcji białka.

Podsumowując, przeprowadzone badania opisane w pracy [H11] związane z określeniem stopnia pokrycia nanocząstek złota i srebra katalazą z wykorzystaniem elektroforezy żelowej wykazały związek pomiędzy procesem tworzenia korony białkowej na powierzchni nanocząstek a właściwościami fizykochemicznymi nanocząstek. Wykazano i potwierdzono zależność procesu adsorpcji fizycznej białka od rodzaju nanocząstek

metalicznych stosowanych do ich immobilizacji, co umożliwiło pełniejsze zrozumienie procesów funkcjonalizacji nanocząstek białkami oraz interakcji nanocząstka-białko.

W pracy [H9] opisano proces immobilizacji dysmutazy ponadtlenkowej na powierzchni kulistych nanocząstek złota i srebra wytwarzanych metodą redukcji chemicznej o rozmiarze rdzenia metalicznego w przypadku nanocząstek złota:  $d_{STEM-1} = 13$  nm;  $d_{STEM-2} = 20$  nm;  $d_{STEM-3} = 31$  nm oraz  $d_{STEM-4} = 43$  nm oraz średnicy hydrodynamicznej odpowiednio:  $d_{DLS-1} = 17 \pm 3$  nm;  $d_{DLS-2} = 24 \pm 4$ ;  $d_{DLS-3} = 37 \pm 7$  oraz  $d_{DLS-4} = 48 \pm 9$  nm, natomiast w przypadku nanocząstek srebra:  $d_{STEM-1} = 13$  nm;  $d_{STEM-2} = 27$  nm;  $d_{STEM-3} = 33$  nm oraz  $d_{STEM-4} = 45$  nm oraz średnicy hydrodynamicznej odpowiednio:  $d_{DLS-1} = 18 \pm 3$  nm;  $d_{DLS-2} = 38 \pm 6$ ;  $d_{DLS-3} = 49 \pm 9$ ;  $d_{DLS-4} = 61 \pm 11$  nm. Proces immobilizacji dysmutazy ponadtlenkowej na powierzchni nanocząstek prowadzono na drodze inkubacji wodnego koloidu z odpowiednią ilością białka. Wykorzystując metodę elektroforezy żelowej ilość białka dobrano tak, aby stopień pokrycia nanocząstek białkiem wynosił odpowiednio: 66%, 100% oraz 133%. Umożliwiło to zbadanie i określenie wpływu powierzchni nanocząstek (pokrycie 66% powierzchni nanocząstki białkiem) oraz obecności wolnego białka (pokrycie równe 133%) w roztworze umożliwiającego zachowanie procesów równowagowych w koloidzie pomiędzy białkiem zaadsorbowanym i tym znajdującym się w roztworze, na aktywność enzymatyczną koniugatów nanocząstka-białko. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej mierzono bezpośrednio po immobilizacji na nanocząstkach oraz w kolejnych odstępach czasowych wynoszących: 30 minut, 1 godzina, 6 godzin, 24 godziny, 3 dni, 5 dni, 7 dni i 10 dni, a uzyskane wyniki porównano z aktywnością katalazy o odpowiednim stężeniu w wodzie. Przeprowadzone prace badawcze opisane w pracy [H9] wykazały spadek aktywności enzymatycznej dysmutazy ponadtlenkowej po immobilizacji na nanocząstkach złota w czasie w porównaniu z aktywnością próbki odniesienia, którą stanowił wodny roztwór białka o takim samym stężeniu co w układzie koloidalnym. Zmiany aktywności enzymatycznej dysmutazy ponadtlenkowej w czasie w przypadku białka immobilizowanego na nanocząstkach złota były porównywalne do trendu zmian, który obserwowano dla próbki odniesienia. Badania wykazały również, że najmniejsze zmiany aktywności enzymatycznej dysmutazy ponadtlenkowej w porównaniu z wolnym białkiem zaobserwowano w przypadku największych z badanych nanocząstek, o średnim rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 43$  nm, w porównaniu do pozostałych badanych nanocząstek złota. Fakt ten związany jest z procesami adsorpcji oraz dostępnością centrum aktywnego białka na powierzchniach o różnym promieniu krzywizny. Promień krzywizny małej kulistej nanocząstki o średnim rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 13$  nm jest znacznie większy w porównaniu z nanocząstką o rozmiarze  $d_{STEM} = 43$  nm. W przypadku dużych nanocząstek powierzchnia dostępna do modyfikacji jest bardziej płaska w związku z tym procesy adsorpcji białka znacznie bardziej przypominają te, zachodzące na płaskim podłożu stałym, niż w przypadku małych nanocząstek o dużym promieniu krzywizny. To z kolei wpływa na ułożenie białka na powierzchni nanocząstki oraz gęstość jego ułożenia, determinując w ten sposób dostęp do centrum aktywnego, a w konsekwencji, wpływając na aktywność enzymatyczną. Podobne zależności odnotowano w przypadku koniugatów AgNPs-dysmutaza ponadtlenkowa, gdzie również zaobserwowano spadek aktywności enzymatycznej białka po immobilizacji na powierzchni nanocząstek srebra oraz zmiany aktywności enzymatycznej białka w zależności od rozmiaru nanocząstek zastosowanych do immobilizacji.

**Wyniki aktywności enzymatycznej katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej immobilizowanych na drodze adsorpcji fizycznej na nanocząstkach złota i srebra przedstawione w pracach [H8], [H9] oraz [P26] wykazały jednak obniżenie ich aktywności bezpośrednio po immobilizacji. W związku z tym, poszukiwano takich metod immobilizacji, które zapewniłyby unieruchomienie białka na powierzchni nanocząstek metalicznych bez utraty ich aktywności enzymatycznej. Zatem, kolejnym etapem badań było opracowanie procedury immobilizacji białka poprzez zastosowanie linkera umożliwiającego odsunięcie białka od powierzchni nanocząstki oraz specyficzne jego ustawienie przestrzenne, tak aby zachować niezmienną aktywność białka po immobilizacji.**

W pracy [H8] opisana została procedura immobilizacji katalazy na nanocząstkach złota o rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 13 \pm 1$  nm na drodze specyficznego oddziaływania linkera N<sub>2</sub>,N<sub>2</sub>-bis-(karboksymetyl)-N<sub>6</sub>-[5-(1,2(ditiolan-3-yl)-pentanoil)]-L-lizyny (LA-NTA linker) do znacznika polihistydynowego w cząsteczce katalazy, który umożliwił ustawienie białka na powierzchni nanocząstki zapewniając dostęp do centrum aktywnego białka. Immobilizację katalazy na powierzchni nanocząstek złota przeprowadzono na drodze niespecyficjnej oraz specyficjnej adsorpcji fizycznej, a uzyskane wyniki porównano z aktywnością wodnego roztworu katalazy o odpowiednim stężeniu białka (próbka odniesienia). Niespecyficzną immobilizację białka przeprowadzono na drodze inkubacji wodnego roztworu katalazy z koloidem nanocząstek złota. Procedura specyficjnej immobilizacji katalazy na nanocząstkach złota składa się z dwóch etapów: i) wytworzenie samoorganizującej monowarstwy dwufunkcyjnego łącznika LA-NTA-Ni na powierzchni AuNPs dzięki obecności grupy disiarczkowej; ii) unieruchomienie katalazy znacznikiem polihistydynowym na C-końcu enzymu (wiązanie koordynacyjne pomiędzy pierścieniem imidazolowym reszty histydynowej a atomem niklu Ni<sup>2+</sup> stabilizujące koniugat).

Z wykorzystaniem elektroforezy żelowej oraz protokołu analitycznego określania ilości białka na pojedynczej nanocząstce opisanej w pracy [H6] wyznaczono ilość białka odpowiadającą pełnemu pokryciu nanocząstki złota białkiem. W przypadku adsorpcji specyficjnej pełne pokrycie powierzchni nanocząstki złota uzyskano dla 7 cząsteczek katalazy na jednej nanocząstce, natomiast dla niespecyficjnej 12 cząsteczek katalazy [H8]. Tak wytworzone koniugaty AuNPs-katalaza z ilością białka odpowiadającą pełnemu pokryciu (brak wolnego białka w koloidzie) zostały następnie scharakteryzowane pod względem ich stabilności koloidalnej oraz aktywności enzymatycznej białka zaadsorbowanego na drodze specyficjnej i niespecyficjnej na powierzchni nanocząstek. Charakterystyka fizykochemiczna koniugatów przeprowadzona z wykorzystaniem technik DLS, UV-vis oraz STEM potwierdziła stabilność koloidalną nanocząstek bezpośrednio po funkcjonalizacji ligandem, jak również, po immobilizacji katalazy na modyfikowanych linkerem nanocząstkach. Zaobserwowano wzrost średnicy hydrodynamicznej nanocząstek z  $d_{DLS} = 18 \pm 3$  nm dla wodnego koloidu AuNPs do  $d_{DLS} = 21 \pm 3$  nm oraz  $d_{DLS} = 22 \pm 3$  nm po immobilizacji katalazy na drodze specyficjnej (z wykorzystaniem linkera) oraz niespecyficjnej adsorpcji fizycznej oraz przesunięcie maksimum pasma absorpcji z  $\lambda_{max} = 518$  nm (AuNPs) do  $\lambda_{max} = 523$  nm (AuNPs-CAT adsorpcja specyficjna) oraz  $\lambda_{max} = 525$  nm (AuNPs-CAT adsorpcja niespecyficjna). Nanocząstki złota funkcjonalizowane ligandem LA-NTA-Ni również były stabilne i wykazywały maksimum pasma absorpcji przy długości fali  $\lambda_{max} = 520$  nm (AuNPs- LA-NTA-Ni). Rozmiar metalicznego rdzenia AuNPs pozostał niezmienny po immobilizacji katalazy ( $d_{STEM} = 13 \pm 1$  nm), ale zaobserwowano wzrost odległości między pojedynczymi nanocząstkami zdeponowanymi na podłożu stałym (siatka miedziana z powłoką węglową stosowana do obrazowania preparatów w mikroskopii STEM). Wzrost odległości między pojedynczymi nanocząstkami związany jest z różnicą w wielkości ligandów znajdujących się na powierzchni nanocząstek złota. Obecność na powierzchni nanocząstki anionów cytrynianowych powoduje, że nanocząstki są stabilizowane elektrostatycznie ale ich wzajemna odległość po zdeponowaniu na podłożu stałym i odparowaniu rozpuszczalnika jest niewielka. Duże w porównaniu z anionem cytrynianowym cząsteczki katalazy obecne na powierzchni nanocząstki w koniugatach białko-nanocząstka zapewniają im stabilizację steryczną, powodując zwiększenie dystansu między pojedynczymi nanocząstkami po zdeponowaniu na podłożu stałym i odparowaniu rozpuszczalnika.

Badania aktywności enzymatycznej katalazy immobilizowanej na nanocząstkach złota wykazały różnice w poziomie aktywności białka w zależności od sposobu immobilizacji [H8]. Zaobserwowano spadek aktywności enzymatycznej katalazy o 25% po niespecyficjnej immobilizacji białka na AuNPs w porównaniu do aktywności wolnej katalazy (próbka odniesienia). Specyficzna adsorpcja katalazy na powierzchni nanocząstek złota nie spowodowała zmian jego aktywności enzymatycznej, a aktywność białka po immobilizacji jest równa aktywności białka w próbce odniesienia. Różnice w aktywności enzymatycznej koniugatów nanocząstki złota-katalaza w przypadku immobilizacji specyficjnej i niespecyficjnej wynikają z różnych orientacji przestrzennych białka



na powierzchni nanocząstki w zależności od sposobu jego immobilizacji. Niespecyficzna immobilizacja katalazy oraz statystyczne ułożenie jej cząsteczek na powierzchni nanocząstki złota prowadzi do częściowego zablokowania miejsca aktywnego enzymu, a w konsekwencji, do spadku aktywności enzymatycznej koniugatów katalaza-nanocząstka złota. Specyficzne ułożenie cząsteczek białka na nanocząstce dzięki zastosowaniu linkera zapewnia swobodny dostęp do miejsca aktywnego enzymu, co prowadzi do pełnego zachowania aktywności enzymatycznej koniugatów CAT-AuNPs, a aktywność białka immobilizowanego specyficznym linkierem jest wyższa w porównaniu do aktywności katalazy immobilizowanej na drodze adsorpcji niespecyficznej.

Podsumowując, w pracy [H8] wykazano, że metoda immobilizacji warunkuje stopień adsorpcji białka na powierzchni nanocząstek metalicznych oraz jego aktywność enzymatyczną. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem elektroforezy w żelu poliakrylamidowym wykazały, że maksymalne pokrycie powierzchni nanocząstek złota o rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 13$  nm katalazą wynosi: 12 oraz 7 cząsteczek na jedną nanocząstkę odpowiednio dla niespecyficznej oraz specyficznej adsorpcji fizycznej. Zastosowanie do immobilizacji białka dwufunkcyjnego linkera składającego się z grupy siarczkowej, wykazującej powinowactwo do powierzchni złota, oraz atomu niklu z przeciwnej strony umożliwiającego wytworzenie wiązania koordynacyjnego z pierścieniem imidazolowym reszty histydynowej znajdującej się na C-końcu katalazy, umożliwiło wytworzenie w pełni funkcjonalnych koniugatów w postaci nanocząstka złota-katalaza z zachowaniem aktywności enzymatycznej białka. Udowodniono w ten sposób, że zastosowanie linkera do immobilizacji białka umożliwia jego unieruchomienie na nanocząstkach bez utraty aktywności enzymatycznej i wytworzenie funkcjonalnych bio-koniugatów. Możliwość wykorzystania takich hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych w postaci bio-koniugatów białko-nanocząstka metaliczna [H6, H8, H9, H11] jako preparatów zwiększających potencjał antyoksydacyjny skóry oraz układów wspomagających regenerację skóry uszkodzonej promieniami UV przedstawiono w pracy [41- P37].

#### 4.3.4.3. Funkcjonalizacja nanocząstek metalicznych związkami pochodzenia naturalnego [H7, H10]

Fizykochemiczne właściwości nanocząstek tj. rodzaj materiału z którego są zbudowane, kształt, rozmiar oraz rozrzut wielkości, modyfikatory obecne na powierzchni, determinują możliwości ich biomedycznego zastosowania. Interakcje, w których pośredniczą ligandy obecne na powierzchni nanocząstek, zapewniają również wiele możliwości ich wykorzystania w aspekcie spersonalizowanej medycyny, poprzez celowe kierowanie nanocząstek do miejsc chorych oraz eliminację niepożądanych skutków ubocznych. W zależności od zamierzonego zastosowania, wybrane do funkcjonalizacji nanocząstek ligandy mają kluczowy wpływ na skuteczność działania całego układu hybrydowego, gdyż interakcje między nanocząstkami a systemami biologicznymi są w rzeczywistości determinowane przez związki funkcyjne znajdujące się na powierzchni nanocząstki, warunkujące interakcje wiązań chemicznych, ładunek powierzchniowy oraz hydrofobowość nanocząstek. Zatem, rodzaj modyfikatorów znajdujących się na powierzchni nanocząstek odgrywa znaczącą rolę w interakcjach nano-bio, które mogą być świadomie kształtowane poprzez celową modyfikację powierzchni nanomateriałów prowadząc do biokompatybilnych oraz ukierunkowanych biologicznie nanocząstek.

Związki funkcyjne stosowane do modyfikacji nanocząstek do zastosowań biomedycznych obejmują przeciwciała, zmodyfikowane fragmenty przeciwciał, białka, peptydy, oraz związki pochodzenia naturalnego o znaczeniu biologicznym [x]. Grupą związków wykazującą aktywność biologiczną, którą wykorzystano do wytwarzania nanocząstek funkcjonalnych do zastosowań biomedycznych są związki pochodzenia naturalnego z grupy polifenoli, tj. kwas galusowy, galusan epikatechiny, galusan epigalokatechiny, katechina, epikatechina, epigalokatechina, resweratrol, procyjanidyna B2 [H10] oraz kwas taninowy [H7, H10] wchodzące w skład ekstraktu z zielonej herbaty znanej ze swojej bioaktywności oraz wykorzystywanej w procesach gojenia ran. Kwas taninowy zbudowany z cząsteczki glukozy i 10 cząsteczek kwasu galusowego znany jest ze swoich właściwości przeciwutleniających, przeciwdrobnoustrojowych, przeciwwirusowych oraz przeciwzapalnych

[51, 52]. Kwas galusowy (kwas 3,4,5-trihydroksybenzoesowy) występujący w prawie wszystkich roślinach [53] wykazuje właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwbólowe i przeciwnowotworowe [54, 55]. Katechiny są naturalnie występującymi związkami polifenolowymi o domniemanym działaniu przeciwzapalnym i przeciwutleniającym [56, 57]. Resweratrol (3,5,4'-trihydroksy-trans-stilben) i jest jednym z najlepiej zbadanych polifenoli o właściwościach plejotropowych [58, 59]. Z kolei, proantocyjanidyny to rodzaj związków fenolowych, zbudowanych z jednostek flawan-3-olowych, takich jak katechina, epikatechina, galokatechina, epigalokatechina, których przykładem jest procyjanidyna B2 wykazująca właściwości przeciwbakteryjne, przeciwutleniające oraz przeciwzapalne [60]. Fakt, iż wymienione polifenole wykazują silne właściwości przeciwutleniające, antymutagenne, przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, przeciwwirusowe oraz przeciwbakteryjne sprawia, że są one klasą związków niezwykle ciekawą w kontekście funkcjonalizacji nanocząstek i wytwarzania hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych do zastosowań biologicznych, szczególnie w przypadku leczenia uszkodzeń skóry, takich jak rany i oparzenia. **Pomimo, wielu doniesień literaturowych dotyczących funkcjonalizacji nanocząstek związkami pochodzenia naturalnego, zauważalny jest jednak brak systematycznych badań dotyczących funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych związkami polifenolowymi. Niewiele również było wiadomo jak budowa strukturalna ligandu polifenolowego wpływa na właściwości koniugatów polifenol-nanocząstka metaliczna.**

W pracy [H10] opisano procedurę wywarzania hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych w postaci nanocząstek bimetalicznych Au@AgNPs modyfikowanych polifenolami oraz wykazano możliwości ich wykorzystania w procesach leczenia ran. Do funkcjonalizacji wykorzystano bimetaliczne nanocząstki typu rdzeń-powłoka (ang. *core-shell*), w których na metalicznym rdzeniu ze złota wytworzono powłokę ze srebra uzyskując w ten sposób bimetaliczne nanostruktury Au@AgNPs o średnim rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 30$  nm oraz średnicy hydrodynamicznej  $d_{DLS} = 33$  nm. Nanocząstki wytworzone zostały metodą hodowania na zarodkach krystalizacji (ang. *seed growth mediated method*) wykorzystując jako centa krystalizacji nanocząstki o rozmiarze  $d_{STEM} = 13$  nm otrzymane metodą redukcji chemicznej w wodzie. Umożliwiło to wytworzenie stabilnych, kulistych nanocząstek metalicznych o wąskim rozrzucie wielkości wokół wartości średniej. Z wykorzystaniem techniki mikroskopowej HR-STEM oraz obrazowania z zastosowaniem detektora STEM II w konfiguracji jasnego pola (ang. *bright field*, BF), ciemnego pola (ang. *dark field*, DF) oraz pierścieniowego detektora ciemnego pola o dużym kącie (ang. *high angle annular dark field*, HAADF) wykonano precyzyjną charakterystykę wytworzonych nanocząstek. Struktura bimetaliczna nanocząstek Au@AgNPs typu rdzeń-powłoka została zbadana z wykorzystaniem detektora STEM II - HAADF, który umożliwił uzyskanie obrazu nanocząstek o kontraście zależnym od liczby atomowej  $Z$  badanego materiału oraz rozróżnienie dwóch materiałów znacznie różniących się liczbą atomową: złota ( $Z_{Au} = 79$ ) oraz srebra ( $Z_{Ag} = 47$ ). Przeprowadzone badania wykazały, że powłoka ze srebra znajdująca się na nanocząstkach złota o rozmiarze  $d_{STEM} = 13$  nm jest jednorodna, ciągła i ma grubość około 8 nm.

Procedurę funkcjonalizacji nanocząstek bimetalicznych Au@AgNPs polifenolami przeprowadzono przez inkubację koloidu z wodnym roztworem modyfikatora o odpowiednim stężeniu: 15  $\mu$ M oraz 340  $\mu$ M dla kwasu taninowego, 1000  $\mu$ M dla kwasu galusowego, oraz 200  $\mu$ M dla resweratrolu, galusanu epikatechiny oraz procyjanidyny B2. Stabilność koloidalną nanocząstek po funkcjonalizacji określono z wykorzystaniem techniki DLS. Wartość średnicy hydrodynamicznej nanocząstek po funkcjonalizacji polifenolami wzrosła z  $d_{DLS} = 33$  nm dla Au@AgNPs stabilizowanych anionami cytrynianowymi do:  $d_{DLS} = 36$  nm;  $d_{DLS} = 45$  nm;  $d_{DLS} = 61$  nm;  $d_{DLS} = 63$  nm oraz  $d_{DLS} = 38$  nm po funkcjonalizacji odpowiednio: kwasem galusowym, resweratrole, galusanem epigalokatechiny, procyjanidyną B2 oraz kwasem taninowym. Wzrost wartości średnicy hydrodynamicznej funkcjonalizowanych nanocząstek koreluje z wielkością cząsteczki modyfikatora. Jedynie w przypadku kwasu taninowego, który jest największą cząsteczką spośród wszystkich modyfikatorów nie zaobserwowano takiej zależności, co związane jest z mniejszą ilością modyfikatora zastosowana do funkcjonalizacji (15  $\mu$ M) w porównaniu z pozostałymi polifenolami (200 oraz 1000  $\mu$ M). Przeprowadzone badania toksyczności, wykonane poprzez pomiar potencjału mitochondrialnego mierzonego za pomocą testu JC-1, wykazały, że toksyczność

zarówno nanocząstek bimetalicznych Au@AgNPs, jak i tych modyfikowanych polifenolami była bardzo niska, z wyjątkiem najwyższych stężeń modyfikacji kwasem taninowym (340  $\mu\text{M}$ ) i galusanem epigallokatechiny (200  $\mu\text{M}$ ), których toksyczność była związana ze zwiększonym poziomem wytwarzania reaktywnych form tlenu. Ponadto, nanocząstki bimetaliczne funkcjonalizowane polifenolami wykazywały niewielką internalizację przez komórki HaCaT, co było związane z ich niską toksycznością. Zależność potencjału gojenia ran od rodzaju polifenolu używanego do modyfikacji bimetalicznych nanocząstek określono poprzez pomiar migracji keranocytów w teście zarysowania prowadzonym z użyciem linii ludzkich komórek HaCaT, stosując odpowiednio: i) zmodyfikowane bimetaliczne nanocząstki o stężeniu 5  $\mu\text{g/ml}$ ; ii) roztwór polifenolu o odpowiednim stężeniu iii) Au@AgNPs modyfikowane anionami cytrynianowymi. Przeprowadzone badania wykazały, że obszar zarysowania komórek HaCaT traktowanych funkcjonalnymi Au@AgNPs wykazywał większą liczbę keratynocytów w porównaniu z kontrolą (komórki nietraktowane) ale także, w stosunku do komórek traktowanych cytrynianowymi Au@AgNPs. Jednocześnie, przeprowadzone badania wykazały, że migracja keratynocytów do obszaru zranionego jest zależna od rodzaju polifenolu użytego do modyfikacji Au@AgNP oraz od jego stężenia. Wszystkie badane polifenole i modyfikowane polifenolami Au@AgNPs z wyjątkiem cytrynianowych Au@AgNPs oraz modyfikowanych kwasem taninowym indukowały proliferację komórek HaCaT. Jednocześnie, zaobserwowano znacząco wyższą migrację keranocytów w przypadku funkcjonalizacji Au@AgNPs kwasem taninowym w porównaniu do roztworu kwasu taninowego bez nanocząstek. Wskazuje to, że gojenie się ran przez zastosowanie nanocząstek bimetalicznych funkcjonalizowanych kwasem taninowym odbywa się za pośrednictwem innego procesu niż ten indukowany przez pozostałe badane koniugaty, i jest to mechanizm związany głównie z procesem proliferacji i zamykaniem rany.

Podsumowując, w pracy [H10] po raz pierwszy wykazano, że leczenie bimetalicznymi Au@AgNPs o rozmiarze rdzenia metalicznego 30 nm modyfikowanymi wybranymi polifenolami skutkuje znaczną poprawą gojenia się ran zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Przeprowadzone badania wykazały związek procesu gojenia rany z określonymi właściwościami różnych polifenoli znajdującymi się na powierzchni bimetalicznych Au@AgNPs. Wykazano, że struktura ligandów polifenowych znajdujących się na powierzchni nanocząstek bimetalicznych determinuje proces gojenia rany i wpływa na różne jego etapy. Przeprowadzone badania wykazały również, że funkcjonalizacja nanocząstek bimetalicznych Au@AgNPs wybranymi polifenolami pozwala na przygotowanie nowego typu hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych stosowanych do leczenia uszkodzeń skórnych, takich jak rany i oparzenia, precyzyjnie dostosowanych do rodzaju uszkodzenia. Udowodniono w ten sposób kluczową rolę ligandów znajdujących się na powierzchni nanocząstek metalicznych wchodzących w skład hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych w kształtowaniu interakcji nanocząstka funkcjonalna – układ biologiczny.

Badania biologiczne metalicznych nanocząstek funkcjonalizowanych kwasem taninowym, przedstawione w pracy [P28], wykazały również przeciwwirusowe działanie takich bio-koniugatów w zwalczaniu zakażeń wywołanych wirusem opryszczki pospolitej (HSV). Zakażenia wirusem opryszczki pospolitej oraz brak stosowanego leczenia ma bardzo poważne skutki dla osób bagatelizujących ten problem, gdyż doniesienia literaturowe wskazują na wpływ roli tego wirusa na podatność oraz rozwój chorób neurodegeneracyjnych, szczególnie w przypadku choroby Alzheimer'a, wskazując, że wirus opryszki wyraźnie przyczynia się do rozwoju tych chorób poprzez produkcję i odkładanie się amyloidu beta ( $\text{A}\beta$ ) w mózgu [61, 62].

Proces zakażenia i późniejszy rozwój choroby wirusowej zależy od wejścia, penetracji, replikacji i zajęcia przez wirusa komórek gospodarza [63]. Z kolei, proces wejścia wirusa, stanowiący kluczowy etap w całym procesie zakażenia, determinowany jest procesem wiązania wirusa z docelowym białkiem akceptorowym błony komórkowej komórki gospodarza, za który odpowiedzialne są ligandy (białka) znajdujące się na powierzchni wirusa. Jedną ze strategii opracowywania nowych środków przeciwwirusowych jest zakłócanie interakcji ligandów wirusa i białek akceptorowych błony komórkowej, blokując w ten sposób przyłączenie i wejście wirusa do komórki oraz dalszy rozwój zakażenia wirusowego [63, 64]. Udowodniono, że nanocząstki metaliczne,

zwłaszcza złota i srebra, wykazują działanie przeciwwirusowe przeciwko różnym wirusom [63, 64, 65-67], a mechanizm przeciwwirusowy w przypadku nanocząstek złota związany jest głównie z blokowaniem przyłączenia białka gp120 z receptorem CD4 limfocytu w celu zahamowania wnikania wirusa, podczas gdy mechanizm przeciwwirusowy nanocząstek srebra obejmuje hamowanie wnikania, przyłączania lub replikacji wirusa [65-67]. Prace zespołu Stellacci'ego [64] oraz Haag'a [68] jasno wskazują, że blokowanie interakcji między wirusem a komórką gospodarza jest skutecznym sposobem prowadzącym do powstrzymania rozwoju infekcji wirusowych, a funkcjonalne nanocząstki mogą być stosowane jako środek przeciwwirusowy o szerokim spektrum działania, który hamuje pierwszy etap infekcji wirusowej, czyli adhezję wirusa do powierzchni komórki gospodarza.

**Wyraźny wpływ budowy strukturalnej związków polifenolowych na właściwości biologiczne koniugatów polifenol-nanocząstka metaliczna oraz interakcje na granicy faz „nano-bio” wykazane w pracy [H10] stały się przyczynkiem do przeprowadzenia badań zmierzających do określania możliwej struktury/struktur ligandu znajdującego się na nanocząstkach w celu głębszego poznania i zrozumienia mechanizmów wytwarzania oraz działania antywirusowego takich bio-koniugatów. Znając możliwą strukturę ligandów powierzchniowych nanocząstek możliwe jest kontrolowanie i kształtowanie interakcji pomiędzy funkcjonalnymi nanocząstkami a białkami powierzchniowymi wirusa zmierzające do zakłócenia i zahamowania ich rozpoznawania i adhezji do receptorów komórek gospodarza, a takie podejście, umożliwia wykorzystanie nanocząstek funkcjonalnych jako skutecznych preparatów antywirusowych.**

W pracy [H7] opisano procedurę wytwarzania nanocząstek srebra o kontrolowanym kształcie i rozmiarze z wykorzystaniem cytrynianu sodu i kwasu taninowego. Przeprowadzone prace wykazały, że zastosowanie do wytwarzania nanocząstek srebra tylko jednego z tych reagentów (cytrynianu sodu lub kwasu taninowego) skutkowało otrzymaniem nanocząstek polidispersyjnych. AgNPs o różnych rozmiarach i kształtach otrzymano w syntezach z użyciem cytrynianu sodu. W syntezach prowadzonych z kwasem taninowym otrzymywano głównie kuliste cząstki o rozmiarach od 5 nm do 140 nm. AgNPs o jednorodnym kształcie i wielkości uzyskano w przypadku syntez przeprowadzonych z użyciem mieszaniny cytrynianu sodu i kwasu taninowego. Zastosowanie mieszaniny dwóch reagentów jednocześnie umożliwiło wytworzenie kulistych nanocząstek o rozmiarze rdzenia metalicznego  $d_{STEM} = 32 \pm 6$  nm oraz średnicy hydrodynamicznej  $d_{DLs} = 40 \pm 12$  nm.

Rola poszczególnych reagentów w syntezie nanocząstek srebra została określona z wykorzystaniem pomiarów voltamperometrycznych, modelowania przestrzeni konformacyjnej oraz badań spektroskopowych IR. Przeprowadzone badania jednoznacznie wykazały, że kompleks anion cytrynianowy-kwas taninowy wykazuje lepsze właściwości redukujące niż poszczególne reagenty oddzielnie oraz, że zastosowanie kompleksu do wytwarzania nanocząstek srebra metodą redukcji chemicznej umożliwia uzyskanie hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych o kontrolowanej morfologii. Pomiarzy voltamperometryczne przeprowadzone w celu określenia potencjałów redukujących i utleniających poszczególnych reagentów oraz zmian tych potencjałów w zależności od składu badanego roztworu, wykazały, że potencjał redukcyjny mieszaniny cytrynian sodu–kwas taninowy jest niższy w porównaniu z potencjałami każdego z reagentów osobno. Jednocześnie wykazano, że kwas taninowy w roztworze zawierającym cytrynian sodu najłatwiej ulega procesowi utleniania, a proces ten w przypadku mieszaniny cytrynian sodu-kwas taninowy rozpoczyna się przy potencjale o 0,115 V niższym w porównaniu z roztworem zawierającym tylko kwas taninowy (0,195 V). Wskazuje to na tworzenie kompleksu anion cytrynianowy-kwas taninowy poprzez tworzenia wiązań wodorowych między grupami hydroksylowymi cząsteczek kwasu taninowego a atomami tlenu grup karbonylowych anionu cytrynianowego. Powstawanie trwałych kompleksów zostało również potwierdzone obliczeniami kwantowymi, a możliwe struktury adduktów anion cytrynianowy-kwas taninowy określono z wykorzystaniem modelowania przestrzeni konformacyjnej PM7 oraz PM6. Badania IR wykazały, że na powierzchni nanocząstek obecny jest kompleks anion cytrynianowy-kwas taninowy oraz że kwas taninowy wchodzący w skład kompleksu zostaje utleniony do chinonu w trakcie procesu

wytwarzania nanocząstek. Potwierdza to rolę kompleksu jako czynnika redukującego w procesie wytwarzania nanocząstek srebra metodą redukcji chemicznej.

Podsumowując, w pracy [H7] określono możliwe struktury cząsteczki kompleksu cytrynian-kwas taninowy znajdujące się na powierzchni nanocząstek metalicznych wykazujących działanie wirusobójcze w kierunku wirusa opryszczki odpowiedzialne bezpośrednio za interakcje wirus-nanocząstka funkcjonalna, co przyczynia się pełniejszego zrozumienia zasad budowy i konstruowania bezpiecznych, opartych na nanocząstkach metalicznych hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych do zastosowań biomedycznych. Sposób wytwarzania nanocząstek metalicznych funkcjonalizowanych kompleksem cytrynian-kwas taninowy wykazujących działanie wirusobójcze w kierunku wirusa opryszczki jest objęty ochronną patentową przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej (patent 234349).

W pracach [37-P28, 38-P16, 39-P27] wykazane zostało również działanie immunostymulujące takich funkcjonalnych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych, w postaci nanocząstek srebra funkcjonalizowanych kompleksem cytrynian-kwas taninowy, co wskazuje, że takie hybrydowe nanomateriały mogą stanowić skuteczny adjuwant w walce z wirusem. Należy jednak mieć na uwadze, iż zdolność nanocząstek metalicznych do wywołania odpowiedzi immunologicznej zależy od bardzo wielu czynników, takich jak: rozmiar nanocząstek, rozkład wielkości, pole powierzchni i reaktywność, krystaliczność, agregacja w odpowiednim ośrodku, skład chemiczny rdzenia metalicznego, rodzaj ligandów powierzchniowych. Złożoność odpowiedzi immunologicznej również jest bardzo duża i dotyczy: immunostymulacji, immunosupresji, nadwrażliwości, immunogenności i autoimmunizacji, obejmującą zarówno wrodzoną, jak i adaptacyjną odpowiedź immunologiczną. Dlatego badania w zakresie wykorzystania hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych w zakresie immunomodulującym i usprawniającym terapię chorób zakaźnych są bardzo złożone i obejmują wiele aspektów związanych zarówno z wytwarzaniem oraz charakterystyka takich układów hybrydowych, jak i z ich biokompatybilnością i immunotoksycznością. Niemniej jednak, dokładniejsze poznanie i zrozumienie podstawowych interakcji między funkcjonalnymi nanocząstkami metalicznymi a układem odpornościowym jest niezbędne do opracowania biokompatybilnych, nieimmunotoksycznych i nieimmunogennych nanomateriałów do różnych zastosowań biomedycznych. Badania w zakresie określenia i identyfikacji odpowiedzi immunologicznej oraz kształtowania interakcji pomiędzy funkcjonalizowanymi nanocząstkami metalicznymi a wirusem opryszczki pospolitej zmierzające do opracowania skutecznych preparatów antywirusowych opartych na nanocząstkach są kontynuowane i są przedmiotem realizowanego obecnie projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki - *Sfunkcjonalizowane nanocząstki metali szlachetnych jako stymulatory odpowiedzi immunologicznej w zakażeniu herpeswirusem typu 1 i 2*, którego jest Wykonawcą.

#### 4.4. Podsumowanie

Przedstawiony cykl publikacji stanowi kompleksowe opracowanie procedur wytwarzania hybrydowych organiczno-nieorganicznych nanocząstek funkcjonalnych do szerokiego spektrum zastosowań. Uzyskane wyniki badawcze dotyczące funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych stanowią jednotematyczny blok publikacji umożliwiający podsumowanie mojego osiągnięcia naukowego, w którym:

- wykazałam, iż proces transferu międzyfazowego nanocząstek z wody do rozpuszczalników niepolarnych jest skuteczną metodą funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych związkami hydrofobowymi, w którym rodzaj modyfikatora i jego budowa strukturalna są kluczowymi czynnikami warunkującymi efektywność tego procesu

- określiłam wpływ sterycznej dostępności grupy funkcyjnej związków tioliowych oraz wpływ długości łańcucha węglowodorowego cząsteczki tiolu oraz drugorzędowych amin alifatycznych na efektywność procesu funkcjonalizacji nanocząstek złota na drodze transferu międzyfazowego
- opracowałam procedurę wytwarzania monomodalnych nanocząstek złota funkcjonalizowanych oktadecyloaminą w niepolarnym rozpuszczalniku z wykorzystaniem techniki elektrorozpylania
- opracowałam procedurę osadzania nanocząstek metalicznych funkcjonalizowanych metoksy-PEG-tiolem zapewniającą homogeniczną dystrybucję nanocząstek na podłożach stałych od pojedynczych nanocząstek do monowarstwy bez kontaktu rozpuszczalnika z podłożem
- opracowałam procedury funkcjonalizacji nanocząstek złota związkami tiolowymi umożliwiające kontrolę rozkładu rozmieszczenia nanocząstek w matrycy polimerowej poprzez kształtowanie interakcji ligand-matryca polimerowa; wykazałam również, że kluczowym czynnikiem determinującym równomierny rozkład 3D nanocząstek metalicznych w matrycy polimerowej jest zastosowanie do funkcjonalizacji liganda kompatybilnego z matrycą polimerowa o budowie strukturalnej podobnej do budowy polimeru stanowiącego matrycę
- opracowałam protokół analityczny z wykorzystaniem elektroforezy żelowej umożliwiający określenie ilości białka zaadsorbowanego na pojedynczej nanocząstce złota nie wymagający zastosowania żadnych procedur usuwania lub oddzielania niezwiązanego białka z roztworu
- wykazałam różnice w mechanizmie tworzenia „korony białkowej” na powierzchni nanocząstek złota i srebra oraz udowodniłam, że proces tworzenia „korony białkowej” na nanocząstkach jest procesem równowagowym, której skład jest zależny od ilości białka, szybkości adsorpcji i desorpcji białka z powierzchni nanocząstki oraz jej składu chemicznego
- opracowałam procedury immobilizacji białek antyoksydacyjnych na nanocząstkach metalicznych z zachowaniem ich aktywności enzymatycznej oraz wykazałam, że metoda immobilizacji warunkuje stopień adsorpcji białka na powierzchni nanocząstek metalicznych oraz jego aktywność enzymatyczną
- udowodniłam, że zastosowanie linkera do immobilizacji białka umożliwia jego adsorpcję na nanocząstkach metalicznych bez utraty aktywności enzymatycznej
- wykazałam, że funkcjonalizacja nanocząstek bimetalicznych związkami pochodzenia naturalnego z grupy polifenoli umożliwia wytworzenie bio-koniugatów o właściwościach wspomagających procesy gojenia ran oraz, że strukturalna ligandów znajdujących się na powierzchni nanocząstek bimetalicznych determinuje ten proces i wpływa na różne jego etapy
- określiłam rolę reagentów w syntezie nanocząstek metalicznych wytwarzanych metodą redukcji chemicznej w wodzie z wykorzystaniem polifenoli
- opracowałam procedury funkcjonalizacji nanocząstek srebra polifenolami prowadzące do wytworzenia bio-koniugatów o działaniu wirusobójczym, immunostymulującym oraz wspomagającym regenerację skóry; określiłam również możliwe struktury cząsteczki kompleksu cytrynian-kwas taninowy znajdujące się na powierzchni nanocząstek metalicznych wykazujących działanie wirusobójcze oraz immunostymulujące odpowiedzialne bezpośrednio za interakcje wirus-nanocząstka funkcjonalna.

Podsumowując, opracowane procedury funkcjonalizacji nanocząstek metalicznych połączone z pełną charakterystyką fizykochemiczną umożliwiły poznanie i pełniejsze zrozumienie mechanizmów kontrolowanego wytworzenia funkcjonalnych organiczno-nieorganicznych hybrydowych nanocząstek funkcjonalnych do zastosowań elektronicznych i biomedycznych.

#### 4.5. Literatura

- [1] [P1] I. Piwoński, **K. Soliwoda**, The effect of ceramic nanoparticles on tribological properties of alumina sol–gel thin coatings, *Ceramics International* 36 (2010) 47–54
- [2] [P2] I. Piwoński, K. Kaździola, A. Kisielewska, **K. Soliwoda**, M. Wolszczak, K. Lisowska, N. Wrońska, A. Felczak, The effect of the deposition parameters on size, distribution and antimicrobial properties of photoinduced silver nanoparticles on titania coatings, *Applied Surface Science* 257 (2011) 7076–7082
- [3] G. Casula, P. Cosseddu, Y. Busby, J.-J. Pireaux, M. Rosowski, B. Tkacz-Szczesna, **K. Soliwoda**, G. Celichowski, J. Grobelny, J. Nováke, R. Banerjee, F. Schreiber, A. Bonfiglio, *Organic Electronic* 18 (2015) 17–23
- [4] J. R. Choi, D. M. Shin, H. Song, D. Lee, K. Kim, Current achievements of nanoparticle applications in developing optical sensing and imaging techniques, *Nano Convergence* 3 (2016) 30
- [5] T. Mitsudome, K. Kaneda, Gold nanoparticle catalysts for selective hydrogenations, *Green Chemistry* 15 (2013) 2636–2654
- [6] Y. Zhang, M. Li, X. Gao, Y. Chen, T. Liu, Nanotechnology in cancer diagnosis: progress, challenges and opportunities *Journal of Hematology & Oncology* 12 (2019) 137
- [7] M. Rahman, A. K. Nayak, S. Beg, M. S. Hasnain, Metallic Nanoparticles for Drug Delivery and Biomedical Applications: Patent Perspectives, *Current Nanomedicine* 8 (2018) 3
- [8] M. J. Kogan, I. Olmedo, L. Hosta, A. R. Guerrero, L. J. Cruz, F. Albericio, Peptides and metallic nanoparticles for biomedical applications, *Nanomedicine* 2 (2007) 287–306
- [9] K. McNamara, S. A. M. Tofail, Nanoparticles in biomedical applications, *Advances in Physics: X* 2 (2017) 54–58
- [10] C. Nützenadel, A. Züttel, D. Chartouni, Critical size and surface effect of the hydrogen interaction of palladium clusters. *Eur. Phys. J. D* 8 (2000) 245–250
- [11] S. Ho Lee, I. Rusakova, D. M. Hoffman, A. J. Jacobson, T. R. Lee, Monodisperse SnO<sub>2</sub>-Coated Gold Nanoparticles Are Markedly More Stable than Analogous SiO<sub>2</sub>-Coated Gold Nanoparticle, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 2479–2484
- [12] Y. Yang, J. Ouyang, L. Ma, T. Jia-Hung C.-W. Chu, Electrical switching and bistability in organic/polymeric thin films and memory devices. *Adv. Funct. Mater.* 16 (2006) 1001
- [13] D. Tsoukalas, From silicon to organic nanoparticles memory devices. *Philos. Trans. R. Soc., A* 367 (2009) 4169
- [14] T. W. Kim, Y. Yang, F. Li, W. L. Kwan, Electrical memory devices based on inorganic/organic nanocomposites, *NPG Asia Mater.* 4 (2012) e18
- [15] Z. C. Liu, F. L. Xue, Y. Su, Y. M. Lvov, K. Varshneyan, Memory effect of a polymer thin-film transistor with self-assembled gold nanoparticles in the gate dielectric, *IEEE Trans. Nanotechnol.* 5 (2006) 379–384
- [16] C. Novembre, D. Guerin, K. Lmimouni, C. Gamrat, D. Vuillaume, Gold nanoparticle pentacene memory transistors. *Appl. Phys. Lett.* 92 (2008) 103314
- [17] W. L. Leong, P. S. Lee, A. Lohani, Y. M. Lam, T. Chen, S. Zhang, A. Dodabalapur, S. G. Mhaisalkar, Non-volatile organic memory applications enabled by in situ synthesis of gold nanoparticles in a self-assembled block copolymer. *Adv. Mater.* 20 (2008) 2325–2331
- [18] X. Wu, S. Mei, M. Bosman, N. Raghavan, X. Zhang, D. Cha, K. Li, K. L. Pey, Evolution of Filament Formation in Ni/HfO<sub>2</sub> SiO<sub>x</sub>/Si-Based RRAM Devices, *Adv. Electron. Mater.* 1 (2015) 1500130
- [19] Y. Sun, M. Tai, Ch. Song, Z. Wang, J. Yin, F. Li, H. Wu, F. Zeng, H. Lin, F. Pan, Competition between Metallic and Vacancy Defect Conductive Filaments in a CH<sub>3</sub>NH<sub>3</sub>PbI<sub>3</sub>-Based Memory Device, *J. Phys. Chem. C* 122 (2018) 6431–6436
- [20] J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hiller, A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold *Discuss. Faraday Soc.* 11 (1951) 55–75
- [21] H. J. Ha, S. W. Jeong, T.-Y. Oh, Y. S. Kim, K. Choi, Y. D. Lee, J. Baek, B. K. Ju, The effect of Au nanoparticle on metal organic semiconductor field effect transistor on plastic substrate by transfer method, IEEE International Conference on Electron Devices and Solid State Circuit (EDSSC), Bangkok, Institute of electrical and Electronics Engineers (IEEE): Piscataway, NJ (2012) pp 1–4
- [22] Yang, Y.; Ouyang, J.; Ma, L.; Jia-Hung Tseng, R.; Chu, C.-W. Electrical switching and bistability in organic/polymeric thin films and memory devices. *Adv. Funct. Mater.* 16 (2006) 1001

- [23] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whyman, Synthesis of Thiol-derivatised Gold Nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1994) 801–802
- [24] S. Rama, K. Perala, S. Kumar, On the Mechanism of Metal Nanoparticle Synthesis in the Brust–Schiffrin Method, *Langmuir* 29 (2013) 9863–9873
- [25] X. Liu, J.G. Warden, Q. Huo, J.P. Brennan, Kinetic study of gold nanoparticle growth in solution by Brust-Schiffrin reaction *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6 (2006) 1054–1059
- [26] X. Wang, S. Xu, J. Zhou, W. Xu, A rapid phase transfer method for nanoparticles using alkylamine stabilizers. *J. Colloid Interface Sci.* 348 (2010) 24
- [27] X. Y. Li, Y. Tang, G. L. Ge, Preparation and potential characterization of highly dispersible phosphate-functionalized magnetite nanoparticles, *Sci. China: Phys., Mech. Astron.* 54 (2011) 1766
- [28] B. Tkacz-Szczesna, **K. Soliwoda**, M. Rosowski, E. Tomaszewska, G. Celichowski, J. Grobelny, Modification of gold and silver nanoparticles with dialkyl dithiophosphates, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 468 (2015) 219–225
- [29][P21] G. Casula, B. Tkacz-Szczesna, Y. Busby, **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Tomaszewska, G. Celichowski, J. Grobelny, J. Pireaux, P. Cosseddu, A. Bonfiglio, Printed Nonvolatile Resistive Memories Based on a Hybrid Organic/Inorganic Functional Ink, *Advances Materials Technologies* (2017) 1700058
- [30] D.H. Lee, K.T. Lim, E.K. Park, H.C. Shin, Ch. S. Kim, K.Ch. Park, J.R. Ahn, J. H. Bang, Y.S. Kim, Investigation of charge trapping mechanism for nanocrystal-based organic nonvolatile floating gate memory devices by band structure analysis, *Electronic Materials Letters* 12 (2016) 376–382
- [31] D. Prime, S. Paul, P. W. Josephs-Franks, Gold nanoparticle charge trapping and relation to organic polymer memory devices, *Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences* 367 (2009) 4215–25
- [32] Y. Zhou, S.T. Han, P. Sonar, V. A. L. Roy, Nonvolatile multilevel data storage memory device from controlled ambipolar charge trapping mechanism, *Scientific Reports* 3 (2013) 2319
- [33] S. Schulz, Nanostructured surfaces by deposition of metal nanoparticles by means of spray techniques, *Adv. Funct. Mater.* 8 (2002) 532–536
- [34] S.R. Samarasinghe, I. Pastoriza-Santos, M.J. Edirisinghe, L.M. Liz-Marzan, Fabrication of nanostructured gold films by electrodynamic atomization, *Appl. Phys.* 91 (2008) 141–147
- [35] P.H.M. Bottger, Z. Bi, D. Adolph, K.A. Dick, L.S. Karlsson, M.N.A. Karlsson, B.A. Wacaser, K. Deppert, Electrospraying of colloidal nanoparticles for seeding of nanostructure growth, *Nanotechnology* 18 (2007) 105304
- [36][P10] G. Casula, P. Cosseddu, Y. Busby, J. Pireaux, M. Rosowski, B. Tkacz-Szczesna, **K. Soliwoda**, G. Celichowski, J. Grobelny, J. Novák, R. Banerjee, F. Schreiber, A. Bonfiglio, Air-stable, non-volatile resistive memory based on hybrid organic/inorganic nanocomposites, *Organic Electronics* 18 (2015) 17–23
- [37][P28] P. Orłowski, A. Kowalczyk, E. Tomaszewska, **K. Ranoszek-Soliwoda**, A. Węgrzyn, J. Grzesiak, G. Celichowski, J. Grobelny, K. Eriksson, M. Krzyzowska, Antiviral Activity of Tannic Acid Modified Silver Nanoparticles: Potential to Activate Immune Response in Herpes Genitalis, *Viruses* 10 (2018) 524
- [38][P16] P. Orłowski, **K. Soliwoda**, E. Tomaszewska, K. Bien, A. Fruba, M. Gniadek, O. Labeledz, Z. Nowak, G. Celichowski, J. Grobelny, M. Krzyzowska, Toxicity of tannic acid-modified silver nanoparticles in keratinocytes: potential for immunomodulatory applications, *Toxicology in Vitro* 35 (2016) 43–54
- [39][P27] P. Orłowski, E. Tomaszewska, **K. Ranoszek-Soliwoda**, M. Gniadek, O. Labeledz, T. Malewski, J. Nowakowska, G. Chodaczek, G. Celichowski, J. Grobelny, M. Krzyzowska, Tannic acid-Modified silver and gold nanoparticles as novel stimulators of dendritic cells activation, *Frontiers in Immunology* 9 (2018) 1115
- [40][P25] P. Orłowski, M. Zmigrodzka, E. Tomaszewska, **K. Ranoszek-Soliwoda**, M. Czupryn, M. Antos-Bielska, J. Szemraj, G. Celichowski, J. Grobelny, M. Krzyzowska, Tannic acid-modified silver nanoparticles for wound healing: the importance of size, *International Journal of Nanomedicine* 13 (2018) 991–1007
- [41][P37] A. M. Pudlarz, E. Czechowska, M. Karbownik, **K. Ranoszek-Soliwoda**, E. Tomaszewska, G. Celichowski, J. Grobelny, E. Chabielska, A. Gromotowicz-Popławska, J. Szemraj, The effect of immobilized antioxidant enzymes on the oxidative stress in UV-irradiated rat skin, *Nanomedicine (Lond.)* 15 (2020) 23–39
- [42] H.R. Kim, K. Andrieux, C. Delomenie, H. Chacun, M. Appel, D. Desmaële, F. Taran, D. Georgin, P. Couvreur, M. Taverna, Analysis of plasma protein adsorption onto PEGylated nanoparticles by complementary methods: 2-DE, CE and Protein Lab-on-chip system, *Electrophoresis* 28 (2007) 2252–2261



- [43] H.R. Kim, K. Andrieux, S. Gil, M. Taverna, H. Chacun, D. Desmaele, F. Taran, D.Georgin, P. Couvreur, Translocation of poly(ethylene glycol-co-hexadecyl)cianoacrylate nanoparticles into rat brain endothelial cells: role of apolipoproteins in receptor-mediated endocytosis, *Biomacromolecules* 8 (2007) 793–799
- [44] I.S. Lee, N. Lee, J. Park, B.H. Kim, Y.W. Yi, T. Kim, T.K. Kim, I.H. Lee, S.R. Paik, T.Hyeon, Ni/NiO core/shell nanoparticles for selective binding and magnetic separation of histidine-tagged proteins, *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006) 10658–10659
- [45] S.R. Saptarshi, A. Duschl, A.L. Lopata, Interaction of nanoparticles with proteins: relation to bio-reactivity of the nanoparticle, *J. Nanobiotechnol.* 11 (2013) 26
- [46] A. Shevchenko, M. Wilm, O. Vorm, M. Mann, Mass Spectrometric Sequencing of Proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels, *Anal. Chem.* 68 (1996) 850–858
- [47] W. Zhang, Y. Yao, N. Sullivan, Y. Chen, Modeling the primary size effect of citratecoated silver nanoparticles on their ion release kinetics, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 4422–4428
- [48] J. Liu, R.H. Hurt, Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 2169–2175
- [49] W. Fang, Z. Chi, W. Li, X. Zhang, Q. Zhang, Comparative study on the toxic mechanisms of medical nanosilver and silver ions on the antioxidant system of erythrocytes: from the aspects of antioxidant enzyme activities and molecular interaction mechanisms, *J. Nanobiotechnol.* 17 (2019) 17
- [50] Y. Matsumura, K. Yoshikata, K. Kunisaki, T. Tsuchido, Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate, *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (2003) 4278–4281
- [51] O. Fernandez, J.Z. Capdevila, G. Dalla, G. Melchor. Efficacy of Rhizophora mangle aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. *Fitoterapia.* 73 (2002) 564–568
- [52] P.Buzzini, P. Arapitsas, M.Goretti, E. Branda, B. Turchetti, P. Pinelli, F. Ieri, A. Romani, Antimicrobial and antiviral activity of hydrolysable tannins. *Mini-Rev Med Chem.* 8 (2008) 1179–1187
- [53] T.B Ng, J.S. He, S.M. Niu, L. Zhao, Z.F. Pi, W. Shao, F. Liu A gallic acid derivative and polysaccharides with antioxidative activity from rose (*Rosa rugosa*) flowers. *J. Pharm. Pharmacol.* 56 (2004) 537–545
- [54] L.G. Korkina, E. Mikhal'chik, M.V. Suprun, S. Pastore, R. Dal Toso, Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring biotechnologically produced phenylpropanoid glycosides, *Cell Mol Biol (Noisy- Le-Grand).* 53 (2007) 84–91
- [55] S. Verma, A. Singh, A. Mishra, Gallic acid: molecular rival of cancer, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 35 (2013) 473–485
- [56] G.C. Yen, H.Y.Chen, Scavenging effect of various tea extracts on superoxide derived from the metabolism of mutagens, *Biosci Biotechnol Biochem.* 62 (1998) 1768–1770
- [57] N. Caturla, E.Vera-Samper, J. Villalai'n, C.R. Mateo, V. Micol, The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes, *Free Rad, Biol. Med.* 34 (2003) 648–662
- [58] E.J. Park, J.M. Pezzuto, The pharmacology of resveratrol in animals and humans, *Biochim. Biophys. Acta.* 1852 (2015) 1071–1113
- [59] H. Wu, Li. He, J. J.Shi, X. Ho, H. Zhang, X. Zhang, Q. An, F. Fan, Resveratrol inhibits VEGF-induced angiogenesis in human endothelial cells associated with suppression of aerobic glycolysis via modulation of PKM2 nuclear translocation, *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 45 (2018) 1265–1273
- [60] L.J.Porter, Flavans and proanthocyanidins. In: Harborne JB, editor. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986. London: Chapman & Hall* (1994) 23–55
- [61] R. Rizzo Controversial role of herpesviruses in Alzheimer's disease, *PLoS Pathog.* 16 (2020) 1008575
- [62] B. J. Balin, A. P. Hudson, Herpes viruses and Alzheimer's disease: new evidence in the debate, *Lancet Neurol.* 17 (2018) 839–841
- [63] A. Salleh, R. Naomi, N. D.Utami ,A. W. Mohammad ,E. Mahmoudi, N. Mustafa, M. B.Fauzi, The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action, *Nanomaterials* 10 (2020) 1566
- [64] V. Cagno, P. Andreozzi, M.D.Alicarnasso, P.J. Silva, M. Mueller, M. Galloux, R.L. Goffic, S.T. Jones, M. Vallino, J. Hodek, J. Weber, S. Sen, E.R. Janecek, A. Bekdemir, B. Sanavio, C. Martinelli, M. Donalisio, M.A.R. Welti, J.F. Eleouet,

- Y.X. Han, L. Kaiser, L. Vukovic, C. Tapparell, P. Kral, S. Krol, D. Lembo, F. Stellacci, Broad-spectrum non-toxic antiviral nanoparticles with a virucidal inhibition mechanism, *Nature Mater.* 17 (2018) 195–205
- [68] L. Donskyi, M. Druke, K. Silberreis, D. Lauster, K. Ludwig, C. Kuhne, W. Unger, C. Bottcher, A. Herrmann, J. Dernedde, M. Adeli, R. Haag, Interactions of fullerene-polyglycerol sulfates at viral and cellular interfaces, *Small* 14 (2018) 1800189
- [65] B.A. Aderibigbe, Metal-based nanoparticles for the treatment of infectious diseases, *Molecules* 22 (2017) 1370
- [66] S. Galdiero, A. Falanga, M. Vitiello, M. Cantisani, V. Marra, M. Galdiero Silver nanoparticles as potential antiviral agents, *Molecules* 16 (2011) 8894–8918
- [67] M. Rai, S.D. Deshmukh, A.P. Ingle, I.R. Gupta, M. Galdiero, S. Galdiero, Metal nanoparticles: the protective nanoshield against virus infection, *Crit. Rev. Microbiol.* 42 (2016) 46–56

##### 5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

Współpraca z ośrodkami naukowymi z zagranicy rozpoczęła się już na początku mojej drogi naukowej, kiedy w 2010 roku w ramach współpracy z Swiss Federal Laboratories for Materials Science and Technology (EMPA) Dübendorf (Szwajcaria) odbyłam 2 miesięczny staż naukowy, gdzie zdobywałam wiedzę i doświadczenie w zakresie charakterystyki nanomateriałów. Od tamtej pory współpraca z ośrodkami naukowymi zarówno z kraju jak i zagranicy, których efektem są wspólne projekty naukowe oraz publikacje w czasopismach z listy filadelfijskiej, jest nadal ważnym elementem mojej aktywności zawodowej:

- wieloletnia współpraca z Wojskowym Instytutem Higieny i Epidemiologii im. Generała Karola Kaczkowskiego w Warszawie w zakresie wytwarzania funkcjonalnych nanocząstek metalicznych do zastosowań przeciwwirusowych zaowocowała 2 wspólnymi projektami naukowymi z Narodowego Centrum Nauki oraz 7 publikacjami w czasopismach z listy filadelfijskiej: *Toxicology in Vitro*, *International Journal of Nanomedicine*, *Frontiers in Immunology*, *Viruses*, *International Journal of Nanomedicine* (2 prace) oraz *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* oraz rozdziałem w monografii naukowej „*Tannic acid modification of metal nanoparticles: Possibility for new antiviral applications*” praca zbiorowa pod redakcją E. Andronescu, A. Grumezescu, w *Nanostructures for Oral Medicine*.

- badania naukowe w zakresie immobilizacji białek antyoksydacyjnych na nanocząstkach prowadzone były wspólnie w naukowcami z Zakładu Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Zakładem Biofarmacji Uniwersytetu Biomedycznego w Białymstoku również zaowocowały wspólnym projektem NCN oraz 6 publikacjami naukowymi w czasopismach: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2 prace), *International Journal of Nanomedicine*, *Applied Biochemistry and Biotechnology* (2 prace), *Colloids and Surfaces A* oraz *Nanomedicine*.

- efektem wieloletniej współpracy z Instytutem Medycyny pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi w zakresie toksycznego działania substancji chemicznych i nanomateriałów są publikacje naukowe w: *Science of the Total Environment*, *Toxicology in Vitro* (3 prace), *Toxicology and Applied Pharmacology*, *Toxicology Letters*, *Journal of Hazardous Materials* (łącznie 7 prac), oraz monografia pt. „*Zastosowanie i efekty biologiczne nanocząstek srebra*” praca zbiorowa pod redakcją Macieja Sępnika.

W swojej pracy naukowej ogromny nacisk kładę na budowę współpracy z partnerami zagranicznymi:

- badania naukowe prowadzone we współpracy z Göteborg University, Sahlgrenska Academy (Szwecja) w zakresie działania immunostymulującego nanocząstek srebra funkcjonalizowanych kwasem taninowym w zwalczaniu zakażeń wirusem opryszczki typu 2 zaowocowały wspólną publikacją w *Viruses*

- efektem współpracy z międzynarodowymi ośrodkami naukowymi: Humboldt-Universität zu Berlin (Niemcy), Eberhard Karls Universität Tübingen (Niemcy), Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix de Namur (Belgia), Università Degli Studi di Cagliari; Università Degli Studi di Roma Tor Vergata; TechOnYou Srl.) (Włochy), Nanoteccenter Weiz Forschungsgesellschaft (Austria), Centre National de la Recherche Scientifique (Francja) był zrealizowany w latach 2012-2014 projekt naukowy w ramach 7 Programu Ramowego Unii Europejskiej pt. "Hybrid organic/inorganic memory elements for integration of electronic and photonic circuitry" oraz 4 publikacje w czasopiśmie z listy filadelfijskiej (*Advanced Materials Technologies, Journal of Nanomaterials, Organic Electronics, Langmuir*). W ramach współpracy naukowej odbyłam również dwa krótkoterminowe wyjazdy naukowe do partnerów zagranicznych uczestniczących w realizacji projektu (Universität Tübingen, Niemcy oraz Università Degli Studi di Roma Tor Vergata, Włochy).

- efektem współpracy oraz potwierdzeniem mojego ciągłego rozwoju naukowego, jak również aktywności w zakresie współpracy międzynarodowej jest udział w konsorcjach oraz sieciach badawczych, w tym udział w przygotowaniu wniosku do konkursu „Teaming for excellence” w ramach programu Horyzont 2020 na stworzenie centrum doskonałości *International Centre for Research on Innovative Biobased Materials (ICRI-BioM)* oraz współpraca z ośrodkami naukowymi z krajów Unii Europejskiej, których efektem jest przygotowanie następujących wniosków aplikacyjnych w ramach Programu Ramowego Unii Europejskiej:

- i) MARIE SKŁODOWSKA-CURIE ACTIONS Innovative Training Networks (ITN) Call: H2020-MSCA-ITN-2018, Nano4CancerExpert, "European network to train experts advancing the development of multimodal nanotechnology-based anti-cancer treatment"
- ii) INFECT-ERA, PROJECT: NANOPEP 2016 "Nanotechnology-based delivery of natural antimicrobial peptides to increase host defense against bacterial lung infections and to reduce antibiotic consumption"
- iii) Horizon 2020, Call: H2020-NMBP-2016-2017, Proposal number: 760101-1 Proposal acronym: NEWCONCEPT, "New concept of nanomaterial identification and grouping".

## 6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.

### 6.1. Osiągnięcia dydaktyczne:

#### 6.1.1. Prowadzone zajęcia dydaktyczne:

##### *Zajęcia seminaryjne:*

Seminarium dyplomowe II

Opieka naukowa nad studentem realizującym Indywidualny Tok Studiów (ITS)

Seminarium licencjackie na kierunku eksperymentalnym

##### *Pracownie laboratoryjne:*

Nanomateriały A

Nanomateriały B

Podstawy technologii chemicznej

Technologia chemiczna

Technologia chemiczna B

Zajęcia specjalistyczne

Nowoczesne techniki analizy instrumentalnej

Specjalistyczne warsztaty chemiczne

Materiały specjalne i biomedyczne

Mikroskopowe i spektroskopowe metody badań nano- i bio-materiałów

Mikroskopowe metody badania powierzchni ciał stałych (*Koordinator przedmiotu*)

*Wykłady:*

Zdolny uczeń - świetny student  
Nanotechnologia II

*Zajęcia laboratoryjne prowadzone w języku angielskim:*

Nanotechnology IIA

**6.1.2. Opieka naukowa nad doktorantami:**

*„Badanie procesu przyłączania katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej do powierzchni nanocząstek metalicznych” Ewa Czechowska – obroniona 23.10.2020 - Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim*

**6.1.3. Opieka naukowa nad magistrantami (5 prac):**

*„Wytwarzanie oraz charakterystyka nanocząstek srebra modyfikowanych kwasem 2-merkaptoetanosulfonowym” Agnieszka Lech (2020-2021)*

*„Wytwarzanie i badania stabilności nanocząstek złota funkcjonalizowanych kwasem metkaptoetanosulfonowym” Sylwia Puchalska (2020-2021)*

*„Badania morfologii i składu chemicznego ludzkich włosów metodą mikroskopii elektronowej” Dominika Mączyńska (2019-2020)*

*„Elektroforeza żelowa do oznaczania stopnia pokrycia nanocząstek złota modyfikowanych jednocześnie katalazą i dysmutazą ponadtlenkową” Natalia Mańkowska (2018-2019)*

*„Wykorzystanie techniki opartej na pomiarze intensywności światła rozproszonego w dydaktyce chemii” Aleksandra Duda (2018-2019)*

**6.1.4. Opieka nad licencjatami (3 prace):**

*„Otrzymywanie nanocząstek srebra z wykorzystaniem polifenoli” Agnieszka Lech (2018-2019)*

*„Wykorzystanie nanocząstek srebra w preparatach antywirusowych” Sylwia Puchalska (2018-2019)*

*„Chemia preparatów antywirusowych” Aleksandra Tarkowska (2017-2018)*

**6.1.5. Recenzje prac licencjackich:**

*„Nanocząstki magnetyczne: otrzymywanie, właściwości i aplikacje” Mateusz Banasiak (2017-2018)*

**6.1.6. Recenzje prac magisterskich:**

*„Synteza nanocząstek srebra w obecności kwasu kawowego” Kornela Maźnio (2017-2018)*

**6.2. Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki:**

- Warsztaty naukowe dla uczniów szkół gimnazjalnych i ponadgimnazjalnych.
- Warsztaty specjalistyczne dla młodzieży gimnazjalnej z mikroskopii elektronowej.
- Współpraca z mediami: udział w programie STUŁ promującym Wydział Chemii UŁ.
- Prowadzenie warsztatów oraz zajęć specjalistycznych z analizy składu pierwiastkowego z wykorzystaniem mikroanalizy rentgenowskiej.

- Udział w projekcie popularyzującym Uniwersytet Łódzki wśród uczniów szkół średnich: „Zdolny Uczeń – Świetny Student” (2018/2019, 2019/2020).

### 6.3. Działalność organizacyjna:

- Udział w konsorcjach i sieciach badawczych - Udział w przygotowaniu wniosku do konkursu *Teaming for excellence* w ramach programu Horyzont 2020 na stworzenie centrum doskonałości *International Centre for Research on Innovative Biobased Materials* (ICRI-BioM).
- Członek Komitetu Organizacyjnego *VIII Krajowej Konferencji Nanotechnologii*, 20-23 czerwca 2017, Łódź.
- Członek Komitetu Organizacyjnego *6th International Conference on Tribochemistry and nanomaterials*, 4-6 września 2013, Łódź.

### 7. Nagrody i wyróżnienia:

2020 – Nagroda Rektora Uniwersytetu Łódzkiego (zespołowa nagroda dydaktyczna stopnia pierwszego) za przygotowanie kierunku inżynierskiego „*Chemia materiałów i nanotechnologia*”.

2018 – Nagroda Rektora Uniwersytetu Łódzkiego (zespołowa, stopnia pierwszego) za cykl publikacji pt. „*Wytwarzanie i charakterystyka fizykochemiczna materiałów nanostrukturalnych*”.

2017 – Nagroda Rektora Uniwersytetu Łódzkiego (zespołowa) za szczególne osiągnięcia naukowe w obszarze nauk ścisłych za cykl publikacji pt. „*Synteza i modyfikacja powierzchni nanomateriałów*” oraz uzyskanie 2 patentów i wdrożenie wynalazku.

2014 – Nagroda Rektora Uniwersytetu Łódzkiego (zespołowa, stopnia drugiego) za cykl publikacji pt. „*Projektowanie, wytwarzanie i charakterystyka nanomateriałów w aplikacjach tribologicznych i biomedycznych*”.

2010 – Nagroda za najlepszy poster na IV Krajowej Konferencji Nanotechnologii NANO 2010, lipiec 2011, Poznań, Polska

### 8. Recenzje artykułów w czasopismach naukowych (11):

Viruses (1)

Gesunde Pflanzen (1)

Arabian Journal of Chemistry (1)

Journal of Colloid and Interface Science (1)

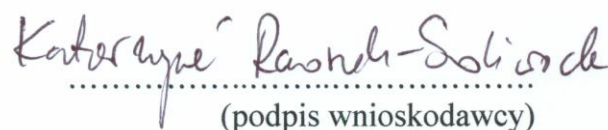
Nanomaterials, Sustainable Chemistry and Pharmacy (1)

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects (2)

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (2)

Inorganic and Nano-Metal Chemistry (1)

Nanomaterials (1)

  
.....  
(podpis wnioskodawcy)