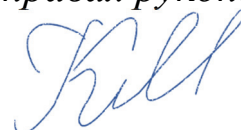


**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА**

*На правах рукописи*



Матвеева Карина Игоревна

**Плазмонно-контролируемые фотопроцессы  
в системах наноразмерных частиц благородных  
металлов, люминофоров и биомолекул**

Специальность: 1.3.6 — оптика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Научно-образовательном центре «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника» Образовательно-научного кластера «Институт высоких технологий» Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта.

Научный  
руководитель: **Брюханов Валерий Вениаминович**,  
доктор физико-математических наук, профессор,  
ведущий научный сотрудник Научно-образовательного центра  
«Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника»  
Образовательно-научного кластера «Институт высоких  
технологий» Балтийского федерального университета  
имени Иммануила Канта

Официальные  
оппоненты: **Легута Сергей Николаевич**,  
доктор физико-математических наук, профессор,  
проректор по научной работе  
Оренбургского государственного университета

**Постников Евгений Борисович**,  
доктор физико-математических наук, доцент,  
заведующий отделом теоретической физики Научно-исследова-  
тельского центра физики конденсированного состояния; профессор  
кафедры физики и нанотехнологий факультета физики, математики,  
информатики Курского государственного университета

**Целиков Глеб Игоревич**,  
кандидат физико-математических наук,  
старший научный сотрудник лаборатории нанооптики и плазмоники  
Центра фотоники и двумерных материалов  
Московского физико-технического института  
(национального исследовательского университета)

Защита диссертации состоится «24» ноября 2022 года в 16:30 на заседании диссертационного совета МГУ.013.6(МГУ.01.08) на физическом факультете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 2, физическая аудитория имени Р.В. Хохлова.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций Научной библиотеки Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27) и в сети Интернет:

<https://istina.msu.ru/dissertations/495537071/>

Автореферат разослан «\_\_\_» октября 2022 года.

Учёный секретарь  
диссертационного совета МГУ.013.6(МГУ.01.08),  
доктор физико-математических наук, доцент  
[kosareva@physics.msu.ru](mailto:kosareva@physics.msu.ru)



О.Г. Косарева

## Общая характеристика работы

### Актуальность темы и степень её проработки.

Важнейшим направлением исследований в настоящее время является изучение фотопроцессов в системах наночастица-биообъект, направленное на решение прикладных задач. Такие исследования несут значительный потенциал и закладывают фундаментальные основы новых подходов, результаты которых могут быть использованы для диагностики и лечения социально-значимых заболеваний. Вместе с тем, ведутся работы по получению наночастиц (НЧ), выполняющих отдельные сенсорные, диагностические, терапевтические функции, а также и НЧ, обладающих несколькими функциональными возможностями (модальностями). Последние находят широкое применение в сенсорике и оптической визуализации<sup>1</sup>, магнитно-резонансной томографии<sup>2</sup>, компьютерной томографии<sup>3</sup>, двухфотонной эмиссионной томографии<sup>4</sup>, а также для контроля высвобождения лекарственного препарата и пролонгирования его действия. Так, например, создаются многомодальные НЧ с целью исследования сердечно-сосудистых патологий, в частности, для визуализации патофизиологических деталей сердечно-сосудистых заболеваний<sup>5</sup>, для получения информации о структуре тромбоцита<sup>6</sup> и адресной доставки препарата к мишени. Одним из перспективных областей исследований в части разработки наноразмерных сенсоров является направление, основанное на применении эффекта плазмонного резонанса (ПР) и спектроскопии комбинационного, гигантского комбинационного рассеяния (ГКР)<sup>7,8</sup>, а также плазмон-усиленной флуоресцентной спектроскопии<sup>9</sup>.

Настоящая диссертационная работа направлена на разработку фундаментальных основ создания оптических сенсоров и апробации их для целей оценки изменений структуры сложных биомолекул. В частности, исследование направлено на получение новых фундаментальных результатов о фотопроцессах и закономерностях,

---

<sup>1</sup> Murar M., Albertazzi L., Pujals S. Advanced Optical Imaging-Guided Nanotheranostics towards Personalized Cancer Drug Delivery // *Nanomaterials*. – 2022. – Vol. 12. – No. 3. – P. 399.

<sup>2</sup> Shen Z. et al. Multifunctional theranostic nanoparticles based on exceedingly small magnetic iron oxide nanoparticles for T1-weighted magnetic resonance imaging and chemotherapy // *ACS Nano*. – 2017. – Vol. 11. – No. 11. – P. 10992-11004.

<sup>3</sup> Xi D. et al. Gold nanoparticles as computerized tomography (CT) contrast agents // *RSC Advances*. – 2012. – Vol. 2. – No. 33. – P. 12515-12524.

<sup>4</sup> Goel S. et al. Positron emission tomography and nanotechnology: A dynamic duo for cancer theranostics // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2017. – Vol. 113. – P. 157-176.

<sup>5</sup> Tu Y. et al. Multimodality molecular imaging of cardiovascular disease based on nanoprobes // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2018. – Vol. 48. – No. 4. – P. 1401-1415

<sup>6</sup> Barkur S., Chidangil S. Surface-enhanced Raman spectroscopy study of red blood cells and platelets // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. – 2019. – Vol. 37. – No. 4. – P. 1090-1098.

<sup>7</sup> Szaniawska A. et al. How Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Could Contribute to Medical Diagnoses // *Chemosensors*. – 2022. – Vol. 10. – No. 5. – P. 190.

<sup>8</sup> Barkur S., Chidangil S. Surface-enhanced Raman spectroscopy study of red blood cells and platelets // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. – 2019. – Vol. 37. – No. 4. – P. 1090-1098.

<sup>9</sup> Li J.F., Li C.Y., Aroca R.F. Plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy // *Chemical Society Reviews*. – 2017. – Vol. 46. – No. 13. – P. 3962-3979.

характеризующих изменения структуры биологических объектов, на примере тромбоцита и на основе анализа его спектральных и спектрально-кинетических характеристик *in vitro* – как при его активации, так и без нее, с использованием плазмонных сенсоров на основе НЧ. С применением контролируемых плазмон-усиленных фото-процессов и последующих оптических измерений выполнен комплекс исследований и оценены спектральные характеристики тромбоцитов до и после действия основных активаторов, участвующих в процессе образования тромба.

**Целью диссертационной работы** является установление механизмов фотофизических процессов в системах биосовместимых оптических сенсоров на основе НЧ металлов различной геометрии, красителей и биологических объектов, находящихся в разных состояниях.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Выполнить теоретический расчет напряженности электрического поля вблизи металлических НЧ варьируемого размера (10 ÷ 120 нм) и форм (сфера (Ag, Au, Pt), стержень (Au), звезда (Au)) методом конечных разностей во временной области (Finite Difference Time Domain, FDTD-метод).

2. Синтезировать золотые НЧ различной геометрии (сфера, стержень, звезда) и размера в присутствии и отсутствии биосовместимой кремнезёмной оболочки (SiO<sub>2</sub>), образованной вследствие добавления тетраэтилового эфира ортокремниевой кислоты к коллоидам. Получить платиновые сферические НЧ методом лазерной абляции. Исследовать морфологические и оптические свойства НЧ.

3. Исследовать плазмон-усиленные спектры комбинационного рассеяния света (КРС), поглощения и флуоресценции молекул красителя родамина 6Ж ((Р6Ж), модельный флуорофор) в коллоидных растворах с НЧ и нанесенных на модифицированную НЧ кварцевую поверхность. Проанализировать спектры поглощения, флуоресценции комплекса «НЧ-флуорофор» и спектры гигантского комбинационного рассеяния света (ГКРС) красителя Р6Ж адсорбированного на кварцевые модифицированные наночастицами поверхности (ГКР-поверхности/ГКР-структуры).

4. Выполнить расчет параметров электронно-колебательного переноса энергии по механизму Фёрстера в комплексе «НЧ-флуорофор», в частности, дать оценку скорости энергетического переноса, критического радиуса переноса энергии и эффективности переноса энергии между золотыми НЧ различной геометрии и молекулами Р6Ж.

5. Выполнить спектральные и спектрально-кинетические исследования собственной и плазмон-индуцированной флуоресценции и рассеяния биообъекта на примере тромбоцита до и после активации коллагеном, тромбином, АДФ методом спектроскопии ГКРС, а также флуоресцентной (в том числе время-разрешенной) флуоресцентной спектроскопии в присутствии и отсутствии НЧ платины.

6. Выполнить расчет параметров электронно-колебательного переноса энергии по механизму Фёрстера в комплексе «НЧ-биообъект», в частности, дать оценку критического радиуса переноса энергии и эффективности переноса энергии между платиновыми НЧ и тромбоцитами.

7. На основе полученных спектральных данных выполнить анализ применимости разработанных фундаментальных подходов для оценки изменений структуры тромбоцита до и после активации коллагеном, тромбином, аденозиндифосфатом (АДФ).

### **Объект и предмет исследования**

Предметом рассмотрения диссертационной работы являются плазмонно-контролируемые фотопроцессы в системах наноразмерных частиц благородных металлов, люминофоров и биомолекул. Объектами исследования являются ансамбли наночастиц, красителей, а также клетки биологических жидкостей человека – тромбоциты.

### **Методология и методы исследования**

Для реализации расчёта напряжённости электрического поля полей вблизи НЧ было применено численное моделирование методом FDTD с применением программного обеспечения ANSYS Lumerical. Получение коллоидных золотых металлических НЧ различной геометрии производилось химическим способом. Платиновые НЧ были получены в работе методом лазерной абляции в жидкости на фемтосекундной лазерной установке TETA-X, AVESTA. Исследование спектров поглощения образцов проводилось на спектрофотометре Shimadzu UV-2600. Размеры синтезированных НЧ были исследованы методом фотонной корреляционной спектроскопии на установке Photocor Compact-Z. Для исследования морфологии поверхностей с адсорбированных на них НЧ была применена двулучевая электронно-ионная система сверхвысокого разрешения Cross Beam XB 540. Для регистрации спектров и кинетики флуоресценции комплекса «НЧ-флуорофор/тромбоцит» использовался спектрофлуориметр Fluorolog-3. Для расчёта квантового выхода была использована приставка Quanta-φ F-3029 Integrating Sphere для спектрофлуориметра Fluorolog-3. Исследование плазмон-усиленных процессов КР комплексов проводились на установке Centaur U. Обработка полученных данных производилась с помощью программного обеспечения Origin Pro и ImageJ.

**Научная новизна** исследования заключается в получении новых фундаментальных результатов о фотопроцессах в системах «НЧ-флуорофор» и «НЧ-биообъект», отражающих спектральные и временные характеристики флуоресценции, а также особенности оптического рассеяния таких объектов. С учетом полученных результатов произведена оценка структуры биообъектов. В диссертационной работе впервые достигнуты следующие результаты:

А) выполнен теоретический расчет напряжённости электрического поля вблизи НЧ металлов, определены оптимальные морфологические и оптические свойства наноструктур для исследований фотофизических процессов в комплексах «НЧ-флуорофор» и «НЧ-биообъект»;

Б) получены коллоидные и планарные плазмонные структуры для регистрации изменений флуоресценции, поглощения и рассеяния.

В) получены данные об особенностях флуоресценции комплекса «НЧ-флуорофор» в зависимости от морфологии НЧ, в том числе при наличии кремнезёмной оболочки на НЧ. Определены параметры и концентрации НЧ, информация о которых может быть использована в реализации процессов, как усиления, так и тушения флуоресценции;

Г) получены спектральные данные колебательной (КР, ГКР) и флуоресцентной спектроскопии, в том числе с временным разрешением, тромбоцитарной массы при их активации коллагеном, тромбином, АДФ в комплексе с НЧ платины.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Использованные в работе подходы к расчёту напряжённости электрического поля вблизи металлической НЧ с варьируемыми оптическими свойствами могут быть использованы для оценки эффективности создаваемых оптических сенсоров на основе НЧ металлов, расчета их морфологических и оптических свойств, в том числе для подбора условий химического и физического синтеза.

Результаты исследований фотофизических процессов в комплексах, состоящих из флуорофора и НЧ варьируемых концентраций, имеют важное практическое значение, поскольку рассматриваемые в работе комплексы могут использоваться в качестве модельных сред для оценки параметров электронно-колебательного переноса энергии, а также анализа спектральных данных, полученных с использованием НЧ.

Полученные фундаментальные результаты с применением КРС- и ГКРС-спектроскопии, флуоресцентной спектроскопии (в том числе с временным разрешением) для исследований комплексов НЧ со сложными объектами на примере тромбоцитов и активаторов могут быть положены в основу разработки оптических сенсоров для целей диагностики состояния клеток крови человека.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Рассчитаны теоретические максимальные значения напряженности электрического поля вблизи НЧ благородных металлов варьируемой морфологии, включая покрытые оболочкой SiO<sub>2</sub>.

2. В комплексе с золотыми наностержнями, имеющими молярную концентрацию в диапазоне от  $1,73 \cdot 10^{-12}$  до  $2,16 \cdot 10^{-11}$  моль/л, интенсивность флуоресценции РБЖ увеличивается до 15%. При тушении флуоресценции РБЖ в комплексе с золотыми наностержнями, имеющими молярную концентрацию выше  $2,16 \cdot 10^{-11}$  моль/л, значение энергетической эффективности переноса достигает 8%.

3. Коэффициент усиления КР света молекул РБЖ на островковых золотых кластерах, адсорбированных на кварцевой поверхности, достигает  $10^5$ .

4. Перенос электронной энергии в двойных системах «Pt НЧ — тромбоцит» приводит к усилению или тушению флуоресценции в комплексе.

**Обоснованность и степень достоверности результатов** исследования подтверждается детальным анализом литературных данных из актуальных источников по теме диссертации с последующим планированием и организацией этапов экспериментов, которые были осуществлены на современном исследовательском оборудовании. При анализе и обработке полученных данных использовались проверенные численные и аналитические методы.

### **Апробация работы**

Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на международных научно-технических конференциях и симпозиумах: SPIE Photonics Europe 2020 (Digital Forum, Страсбург, Франция, 2020), The International Society for Optical Engineering (Ханжоу, Китай, 2019), IV международный Балтийский морской форум (Калининград, 2016, 2017, 2020), VI Международная молодежная научная школа-конференция, посвященная 75-летию НИЯУ МИФИ и 95-летию академика Н.Г. Басова (Москва, 2017), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2019), XXX Симпозиум «Современная химическая физика» (Туапсе, 2018), 23-я ежегодная конференция Saratov Fall Meeting SFM'19 (Саратов, 2019, 2021), XXXI Международная школа-симпозиум по голографии, когерентной оптике и фотонике (Екатеринбург, 2019), 7 Урало-Сибирский семинар «Спектроскопия комбинационного рассеяния света» (Екатеринбург, 2021), XXXII международная школа-симпозиум по голографии, когерентной оптике и фотонике (Санкт-Петербург, 2022).

Автор был отмечен лучшим докладом (1 место) в секции «Физика» (подсекция «Оптика») на Международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ-2019» (Москва, 2019) и на V «Балтийском морском форуме» ФГБОУ ВПО «КГТУ» (Калининград, 2017), а также являлся призером VI международной молодежной научной школе-конференции «Современные проблемы физики и технологий» НИЯУ МИФИ (Москва, 2017).

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) № 19-32-90087 «Плазмонно-контролируемые фотопроцессы в системах наноразмерных частиц благородных металлов и биомолекул», гранта государственного задания Минобрнауки России проекта FZWM-2020-0003 «Исследование новых материалов и методов плазмо- и фототерапии онкологических заболеваний, дерматитов и септических осложнений», соглашения с Минобрнауки России № 75-02-2022-872.

## **Публикации**

Основные результаты диссертации изложены в 19 печатных работах, в том числе 6 статьях в рецензируемых научных журналах, удовлетворяющих Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова, 2 публикациях в других рецензируемых научных изданиях, 2 патентах и 9 публикациях в сборниках трудов и тезисов конференций. Список работ автора приведён в конце автореферата.

## **Личный вклад автора**

Автором диссертационной работы самостоятельно выполнено моделирование напряжённости электрического поля вблизи единичных НЧ золота, варьируемых размера и геометрии (сфера, стержень, звезда), единичных НЧ серебра, варьируемых размера и геометрии (сфера, стержень), и сферической НЧ платины. Также самостоятельно осуществлён подбор протоколов получения комплексов «НЧ-флуорофор» и «НЧ-тромбоцит-активатор». Проведено самостоятельное исследование оптических свойств синтезированных металлических НЧ. Исследованы процессы ГКРС, флуоресценции и поглощения комплексов, а также произведены теоретические расчёты квантового выхода, времени жизни комплексов «НЧ-флуорофор» и «НЧ-тромбоцит», найдены константы электронно-колебательного переноса энергии и рассчитана эффективность переноса энергии в исследуемых комплексах. Химический синтез НЧ произведен совместно с техником НОЦ «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника», аспирантом направления «Химические науки» Зозулей А.С. Получение платиновых НЧ методом лазерной абляции осуществлено совместно с техником НОЦ «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника» БФУ им. И. Канта Ханкаевым А. А. Подготовка тромбоцитарной массы осуществлена на базе НОЦ «Клинические исследования» БФУ им. И. Канта врачами-клиническими фармакологами Моисеевой Е. М и Цапковой А. А. Морфологическое исследование НЧ выполнены совместно с научным сотрудником Международного научно-исследовательского центра «Когерентная рентгеновская оптика для установок Mega-Science» Лятуном И. И. и лаборантом-исследователем Медведской П. Н.

## **Структура и объем диссертации**

Объём диссертационной работы составляет 156 страниц машинописного текста. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов и приложений, включая 8 таблиц и 52 рисунка. Библиографический список включает 410 наименования цитируемой литературы.



## Содержание работы

Во **введении** представлена актуальность проведённых исследований, сформулирована цель, поставлены задачи и отражена научная новизна диссертационной работы. Установлены объект и предмет исследования, перечислены методы исследований. Приведены основные положения, выносимые на защиту, показана практическая ценность достигнутых результатов, а также обоснована степень их достоверности и надёжности. Во введении также представлена информация о личном вкладе автора и апробации проведённых работ.

**Первая глава** диссертационной работы содержит литературный обзор, включающий в себя основы теории рассеяния электромагнитных волн на сферических частицах (неупругое и упругое рассеяние), представлены принципы генерации поверхностного и локализованного плазмонных резонансов. Рассматриваются существующие подходы, основанные на усилении и тушении флуоресценции, в частности, описываются механизмы передачи энергии между донором и акцептором. Представлены основные сведения о механизмах КРС и ГКРС. Описаны механизмы усиления интенсивности ГКРС. Представлены методы создания плазмонных структур, включая химические способы получения коллоидных металлических НЧ, для реализации ГКРС и плазмон-усиленной флуоресценции (металл-усиленная флуоресценция). Приведён литературный обзор по применению методов спектроскопии ГКРС, флуоресцентной спектроскопии в спектральных и спектрально-кинетических исследованиях биологических объектов (клеток, белков), а также НЧ для биомедицинских приложений. Обосновано направление исследований диссертации.

**Во второй главе** работы представлены использованные методы исследования. Описываются основные параметры FDTD-моделирования для расчёта напряжённости электрического поля вблизи единичных металлических НЧ серебра, золота и платины различной геометрии и варьируемого размера. Описаны методы химического синтеза коллоидных металлических золотых НЧ и лазерной абляции в жидкости платиновых НЧ, как одних из основных методов получения НЧ. Описываются этапы пробоподготовки образцов тромбоцитарной массы, а также комплексов «НЧ-тромбоцит» и «НЧ-тромбоцит-активатор». Кроме того, в данной главе приведено описание используемых методик спектрофотометрии, методов флуоресцентной, колебательной спектроскопии, а также сканирующей электронной микроскопии, с помощью которых были проведены исследования.

**Третья глава** диссертационной работы посвящена физико-математического моделированию напряжённости электрического поля вблизи единичных металлических НЧ. Для расчёта значений напряжённости электрического поля вблизи НЧ при-

менялся численный FDTD-метод<sup>10</sup>, основой которого является дискретизация уравнений Максвелла, имеющих дифференциальную форму. В случае двухмерной системы ТЕ (поперечный электрический) и ТМ (поперечный магнитный) моды уравнений Максвелла имеют вид<sup>11</sup>:

$$\text{TE: } \frac{\partial E_x}{\partial t} = \frac{1}{\epsilon} \left( \frac{\partial H_z}{\partial y} \right); \quad \frac{\partial E_y}{\partial t} = -\frac{1}{\epsilon} \frac{\partial H_z}{\partial x}; \quad \frac{\partial H_z}{\partial t} = \frac{1}{\mu} \left( \frac{\partial E_x}{\partial y} - \frac{\partial E_y}{\partial x} \right)$$

$$\text{TM: } \frac{\partial H_x}{\partial t} = -\frac{1}{\mu} \frac{\partial E_z}{\partial y}; \quad \frac{\partial H_y}{\partial t} = \frac{1}{\mu} \frac{\partial E_z}{\partial x}; \quad \frac{\partial E_z}{\partial t} = \frac{1}{\epsilon} \left( \frac{\partial H_x}{\partial y} - \frac{\partial H_y}{\partial x} \right)$$

Используя дискретизацию в пространстве и во времени, решение уравнений принимает вид:

ТЕ

$$E_x|_{i+\frac{1}{2},j}^{n+1} = E_x|_{i+\frac{1}{2},j}^n + \frac{\Delta t}{\epsilon_{i+\frac{1}{2},j}\Delta y} \left[ H_z|_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} - H_z|_{i+\frac{1}{2},j-\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} \right] \quad (1)$$

$$E_y|_{i,j+\frac{1}{2}}^{n+1} = E_y|_{i,j+\frac{1}{2}}^n - \frac{\Delta t}{\epsilon_{i,j+\frac{1}{2}}\Delta x} \left[ H_z|_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} - H_z|_{i-\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} \right] \quad (2)$$

$$H_z|_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} = H_z|_{i+\frac{1}{2},j+\frac{1}{2}}^{n-\frac{1}{2}} + \frac{\Delta t}{\mu_{i,j+\frac{1}{2}}\Delta y} \left[ E_x|_{i+\frac{1}{2},j+1}^n - E_x|_{i+\frac{1}{2},j}^n \right] - \frac{\Delta t}{\mu_{i,j+\frac{1}{2}}\Delta x} \left[ E_y|_{i+1,j+\frac{1}{2}}^n - E_y|_{i,j+\frac{1}{2}}^n \right] \quad (3)$$

ТМ

$$H_x|_{i,j+\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} = H_x|_{i,j+\frac{1}{2}}^{n-\frac{1}{2}} - \frac{\Delta t}{\mu_{i,j+\frac{1}{2}}\Delta y} \left[ E_z|_{i,j+1}^n - E_z|_{i,j}^n \right] \quad (4)$$

$$H_y|_{i+\frac{1}{2},j}^{n+\frac{1}{2}} = H_y|_{i+\frac{1}{2},j}^{n-\frac{1}{2}} + \frac{\Delta t}{\mu_{i+\frac{1}{2},j}\Delta x} \left[ E_z|_{i,j+1}^n - E_z|_{i,j}^n \right] \quad (5)$$

$$E_z|_{i,j}^{n+1} = E_z|_{i,j}^n + \frac{\Delta t}{\epsilon_{i,j}\Delta x} \left[ H_y|_{i+\frac{1}{2},j}^{n+\frac{1}{2}} - H_y|_{i-\frac{1}{2},j}^{n+\frac{1}{2}} \right] - \frac{\Delta t}{\epsilon_{i,j}\Delta y} \left[ H_x|_{i,j+\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} - H_x|_{i,j-\frac{1}{2}}^{n+\frac{1}{2}} \right] \quad (6)$$

Полученные решения позволяют рассчитать компоненты электромагнитных полей вблизи НЧ.

<sup>10</sup> Schneider J.B. Understanding the finite-difference time-domain method // School of electrical engineering and computer science Washington State University. – 2010. – Vol. 28.

<sup>11</sup> Inan U.S., Marshall R.A. Numerical electromagnetics: the FDTD method. – Cambridge University Press, 2011.

В качестве модельной НЧ была выбрана серебряная НЧ сферической (Ag НЧ) и цилиндрической (Ag НС) формы варьируемого размера в присутствии и отсутствии кремнезёмной оболочки (Ag@SiO<sub>2</sub> НЧ, Ag@SiO<sub>2</sub> НС). В результате моделирования были получены следующие результаты.

При моделировании распределения электрического поля вблизи сферических НЧ серебра варьируемого размера (от 5 ÷ 80 нм) было установлено, что максимальное значение напряжённости электрического поля наблюдалось для модели с радиусом  $R_h=40$  нм при длине волны возбуждения  $\lambda = 420$  нм (рисунок 1а). Нанесение кремнезёмной оболочки толщиной  $h = 3$  нм на сферические НЧ серебра (Ag@SiO<sub>2</sub> НЧ) приводит к уменьшению интенсивности напряжённости электрического поля. Однако пиковое значение напряжённости электрического поля, также как и в случае Ag НЧ, было зафиксировано при радиусе ядра  $R_h=40$  нм.

При анализе распределений электрического поля в плоскости  $x$ - $y$  вблизи единичных НЧ было установлено, что напряжённость  $E$ -поля экспоненциально уменьшается по мере удаления от границ НЧ (рисунок 1б). В случае нанесения кремнезёмной оболочки на сферическую серебряную НЧ наблюдалась двойная локализация электрического поля – на границе раздела «металл-оболочка» и на границе «оболочка-вакуум» (рисунок 1в). Максимумы напряжённости электрического поля на границе ядро-оболочка обусловлены локализованным плазмоном на поверхности металла, а на границе оболочка-среда – обусловлены несоответствием волновых импедансов в оболочке и окружающей среде (вакуум), что порождает фиксированную плотность заряда на этой границе, индуцированную как поляризацией падающего поля, так и электрическим полем плазмона дипольярного ядра, проявляющегося в виде не распространяющихся затухающих волн вдоль границы. Следует отметить, что для размеров  $R_h$  ядра Ag@SiO<sub>2</sub> НЧ, равных 5 и 10 нм максимумы напряжённости электрического поля в основном локализованы на границе «металл-оболочка». Дальнейшее увеличение  $R_h$  до 30 ÷ 50 нм привело к появлению максимумов напряжённости электрического

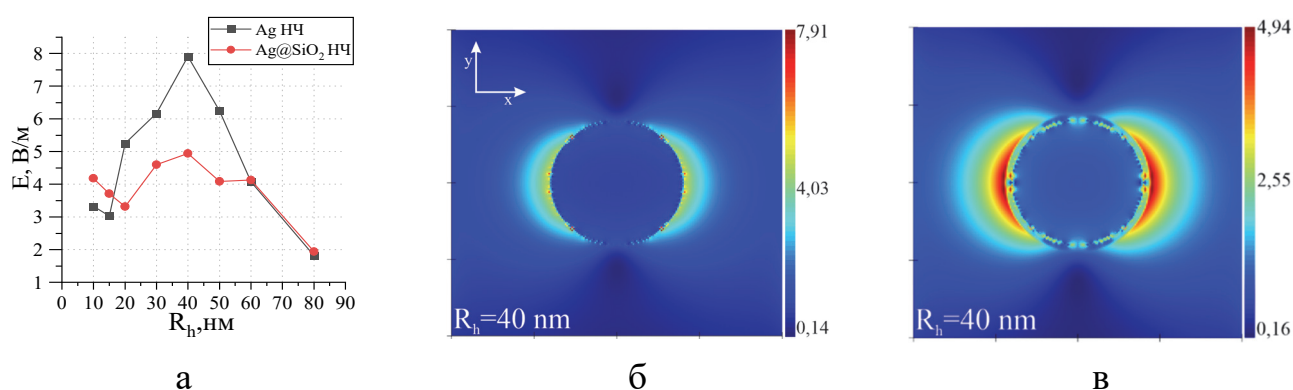


Рис. 1. Зависимость максимальной напряженности электрического поля вблизи Ag НЧ, Ag@SiO<sub>2</sub> НЧ (а) от радиуса НЧ и распределения электрического поля в плоскости  $x$ - $y$  вблизи Ag НЧ (б) и Ag@SiO<sub>2</sub> НЧ (в) при  $R_h=40$  нм

го поля на границе «оболочка-вакуум», однако для случаев  $R_h = 60$  и  $80$  нм картина локализации максимумов напряжённости ближнего  $E$ -поля становилась идентична случаю при  $R_h = 5$  и  $10$  нм.

При исследовании распределения электрического поля вблизи серебряных наностержней в отсутствие ( $\text{Ag}$  НС) и присутствии кремнезёмной оболочки ( $\text{Ag@SiO}_2$  НС) были рассмотрены три случая их ориентации (торцевое, поперечное, продольное) относительно вектора колебаний электрического поля вдоль оси  $x$ . Полуудлина наностержней для НС варьировалась от  $L = 10 \div 120$  нм, при постоянном значении радиуса  $r = 8$  нм. В случае  $\text{Ag@SiO}_2$  НС варьировалась полуудлина ядра НС в том же диапазоне.

Результаты моделирования показали, что минимальные значения напряжённости электрического поля (менее  $1$  В/м) наблюдались при торцевом расположении одиночного НС, а максимальные значения были зафиксированы при продольной ориентации НС относительно вектора колебаний электрического поля. На графиках зависимости максимальной напряжённости электрического поля от полуудлины НС было отмечено возникновение двух пиковых значений напряжённости электрического поля в области полуудлин  $L = 20$  и  $100$  нм (рисунок 2а).

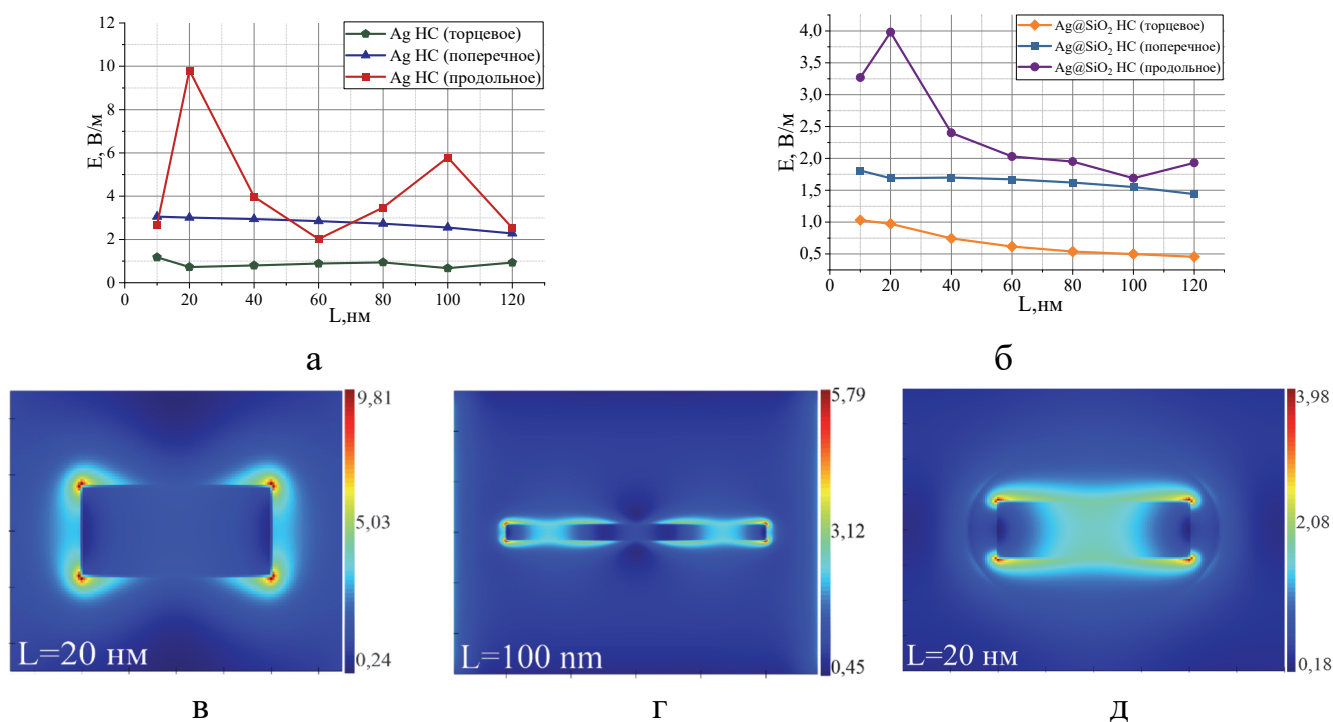


Рис. 2. Зависимость максимальной напряженности электрического поля вблизи  $\text{Ag}$  НС (а),  $\text{Ag@SiO}_2$  НС(б) от полуудлины и ориентации НС относительно вектора колебаний напряженности электрического поля. Распределения электрического поля в плоскости  $x$ - $y$  вблизи  $\text{Ag}$  НС (в, г) при  $L=20$  нм и  $L=100$  нм, соответственно, и  $\text{Ag@SiO}_2$  НС (д) при  $L=20$  нм

В случае  $\text{Ag}@\text{SiO}_2$  НС наблюдалось только одно пиковое значение при полудлине  $L = 20$  нм (рисунок 2б). Также при продольной ориентации НС относительно вектора колебаний электрического поля было отмечено явление «стоячей волны»<sup>12</sup>. Первичная оценка электрического поля, формируемого вблизи сферической платиновой частицы, золотой НЧ варьируемой геометрии и размера, в присутствии и отсутствии кремнезёмной оболочки, позволила определить оптимальные параметры НЧ для дальнейшего проведения исследования плазмон-усиленного КР красителя Р6Ж и тромбоцитов, поглощения и флуоресценции комплексов «НЧ-флуорофор», «НЧ-тромбоцит» и «НЧ-тромбоцит-активатор».

При моделировании распределения электрического поля вблизи сферических НЧ золота и платины варьируемого радиуса (от  $R_h = 5 \div 80$  нм) было установлено, что максимальные значения напряжённости электрического поля наблюдались при  $R_h = 40$  нм, как для золотой НЧ в присутствии и отсутствии кремнезёмной оболочки, так и в случае платиновой единичной НЧ (рисунок 3а – г).

Стоит отметить, что для модельных  $\text{Ag}$  НЧ и  $\text{Ag}@\text{SiO}_2$  НЧ также были установлены пиковые значения при значении радиуса НЧ/ядра  $R_h = 40$  нм. Результаты распределения электрического поля вблизи  $\text{Au}@\text{SiO}_2$  НЧ также схожи с результатами, полученными для  $\text{Ag}@\text{SiO}_2$  НЧ. Однако при радиусе ядра от  $R_h = 60 \div 80$  нм  $\text{Au}@\text{SiO}_2$  НЧ основным местом локализации максимальной напряжённости электрического поля являлась граница «оболочка-вакуум». Для модели платиновой НЧ распределение максимальных и близких к максимальным значениям напряжённости электрического поля имеет дугообразную форму на границе раздела сред по направлению поляризации монохроматической волны при всех исследуемых размерах.

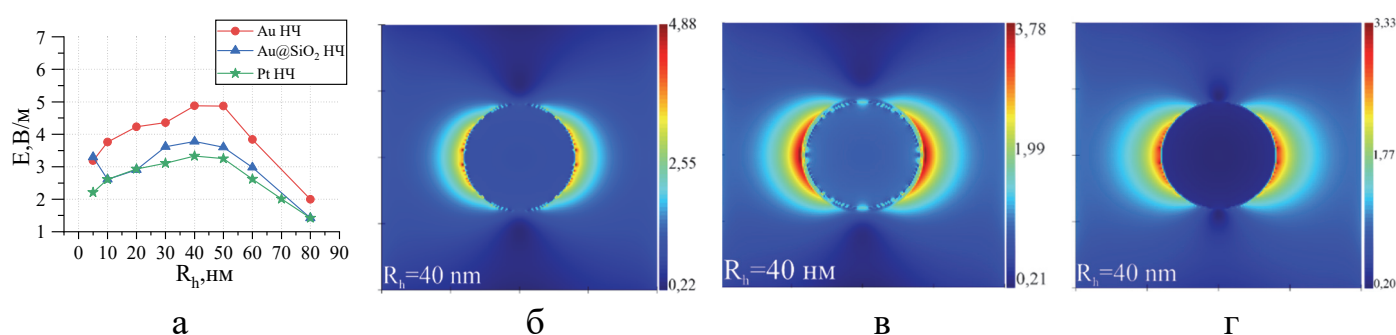


Рисунок 3. Зависимость максимальной напряженности электрического поля вблизи Au НЧ, Au@SiO<sub>2</sub> НЧ, Pt НЧ, (а) от радиуса НЧ и распределение электрического поля в плоскости x-y вблизи Au НЧ (б), Au@SiO<sub>2</sub> НЧ (в) и Pt НЧ (г) при радиусе  $R_h=40$ нм

<sup>12</sup> Nicoletti O. et al. Surface plasmon modes of a single silver nanorod: an electron energy loss study // Optics Express. – 2011. – Vol. 19. – No. 16. – P. 15371-15379.

При исследовании распределения электрического поля вблизи золотых НС (Au НС) в отсутствие и присутствии кремнезёмной оболочки также были рассмотрены три случая ориентации (торцевое, поперечное, продольное) относительно вектора колебаний электрического поля. Полуудлина НС/ядра НС, покрытых SiO<sub>2</sub>, варьировалась от  $L = 10 \div 120$  нм при постоянном значении радиуса  $r = 8$  нм.

Результаты моделирования показали, что при торцевом расположении единичных Au НС и Au@SiO<sub>2</sub> НС значения напряжённости электрического поля также минимальны (менее 1 В/м), как и в случае модельной НЧ идентичной геометрии. Максимальные значения напряжённости электрического поля, полученные при продольной ориентации Au НС относительно вектора колебаний электрического поля, установлены при полуудлине  $L = 20$  и 80 нм (рисунок 4а). Также было установлено, что при нанесении кремнезёмной оболочки, толщиной 15 нм, наблюдалось только одно пиковое значение напряжённости электрического поля при полуудлине  $L = 10$  нм (рисунок 4б). В основном максимальные значения локального электрического поля в плоскости  $x$ - $y$  были локализованы на элементах НС с максимальной кривизной – на углах цилиндра (рисунок 4в-д). Данное явление обусловлено быстрой миграцией заряда вдоль ориентированных структур.

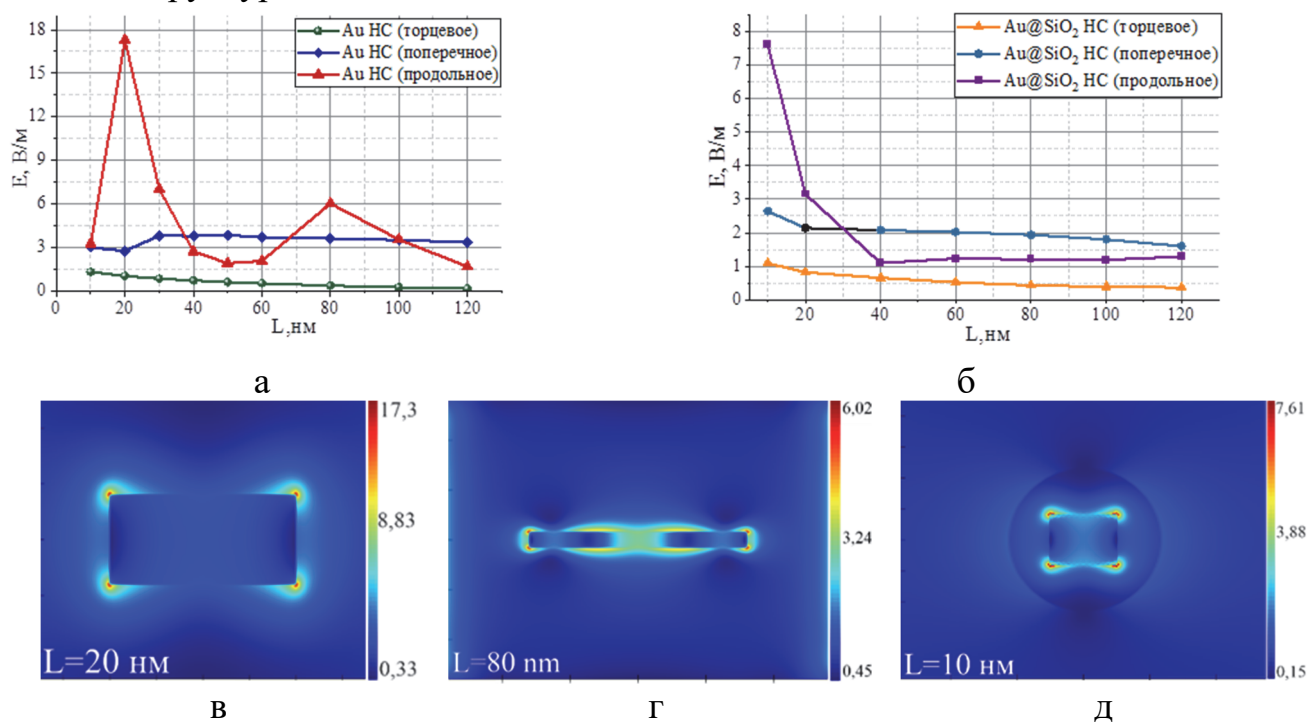


Рис. 4. Зависимость максимальной напряженности электрического поля вблизи Au НС (а), Au@SiO<sub>2</sub> НС (б) от полуудлины и ориентации НС относительно вектора колебаний напряженности электрического поля. Результаты распределения электрического поля в плоскости  $x$ - $y$  вблизи Au НС (в, г) при  $L = 20$  и 80 нм соответственно, и Au@SiO<sub>2</sub> НС (д) при  $L = 10$  нм

В результате FDTD-моделирования электрического поля вблизи золотых нанозвезд (Au НЗ) было установлено, что основным местом локализации электрического поля ПР являются остроконечные вершины (рисунок 5). По мере отклонения от

оси  $x$  концов НЗ, напряженность поля уменьшается. Следует отметить, что преимущество НЗ состоит в том, что они могут иметь варьируемое количество каналов (вершин) передачи энергии исследуемым объектам. Также при сравнении напряжённости электрического поля различных геометрий НЧ было выявлено, что его максимальное значение соответствует НЧ в форме пятиконечной звезды (рисунок 5д). При нанесении кремнезёмной оболочки на золотые нанозвёзды ( $\text{Au}@\text{SiO}_2$  НЗ), дислокация ближнего  $E$ -поля смещается на боковые грани и внутренние углы НЗ, а также уменьшается его напряженность (рисунок 5г). Причины смещения электрического поля не были установлены при анализе литературных данных, поскольку ранее не проводилось моделирование золотых НЗ в кремнезёмной оболочке FDTD-методом.

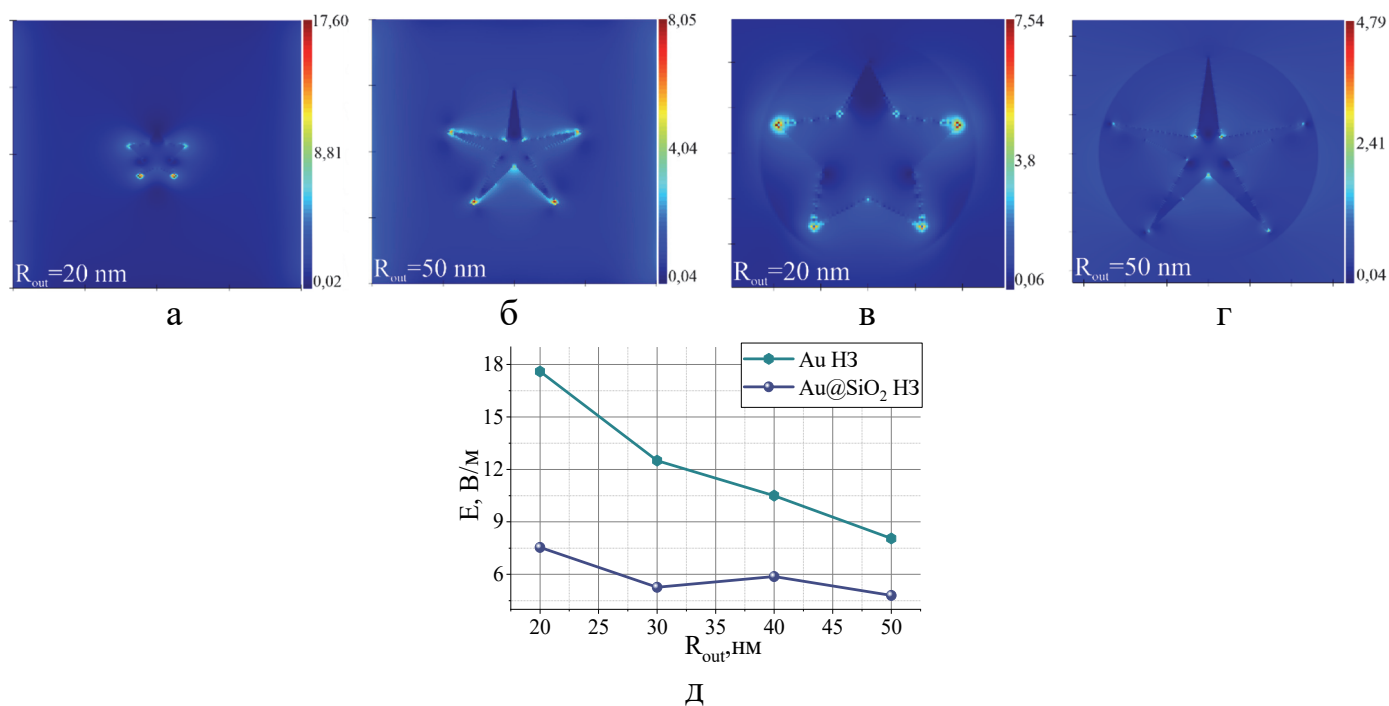


Рисунок 5. Распределение электрического поля в плоскости  $x$ - $y$  вблизи Au НЗ (а, б) и  $\text{Au}@\text{SiO}_2$  НЗ (в, г) с внешним радиусом 20 нм и 50 нм, соответственно, и зависимость максимальной напряженности электрического поля вблизи НЗ от внешнего радиуса ( $R_{out}$ )

**В четвертой главе** представлены результаты по исследованию морфологических и оптических свойств, синтезированных химическим методом НЧ золота различной геометрии. Установлено, что нанесение кремнезёмной оболочки уменьшает значение оптической плотности у  $\text{Au}@\text{SiO}_2$  НЧ,  $\text{Au}@\text{SiO}_2$  НЗ, а также регистрируется смещение максимумов оптической плотности от 3 до 28 нм (рисунок 6а). Результаты сканирующей электронной микроскопии подтвердили наличие различных форм НЧ (сфера, стержень, звезда) и присутствие кремнезёмной оболочки на НЧ.

Кроме того, методом спектрофотометрии, спектрофлуориметрии и колебательной спектроскопии были исследованы комплексы «НЧ-флуорофор» при варьировании молярной концентрации НЧ (от начальной ( $C$ ) до  $C/4 \cdot 10^4$ ) и постоянной молярной концентрации РБЖ ( $10^{-6}$  моль/л).

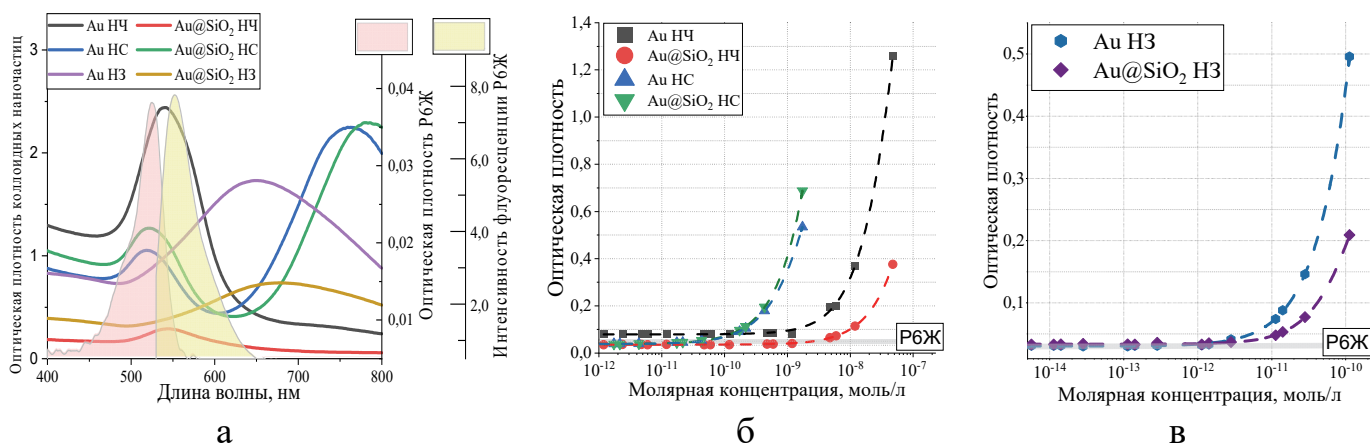


Рисунок 6. Спектры оптической плотности коллоидных НЧ начальной молярной концентрации, спектр оптической плотности и флуоресценции Р6Ж (а), спектры оптической плотности комплексов «НЧ-флуорофор» при варьлируемой молярной концентрации НЧ (от  $C$  до  $C/4 \cdot 10^4$ )

Исследование методом спектрофотометрии комплекса «НЧ-флуорофор» показало, что при добавлении НЧ, молярной концентрации от  $C/4 \cdot 10^4$  до  $C/40$ , в комплекс регистрируется только максимум оптической плотности Р6Ж. По мере увеличения молярной концентрации НЧ (от  $C/40$  до  $C$ ) в комплексе с красителем увеличивается и их оптическая плотность (рисунок 6б, в). Из-за перекрывания максимумов оптической плотности Au НЧ, Au@SiO<sub>2</sub> НЧ, Au НС, Au@SiO<sub>2</sub> НС и Р6Ж на длине волны 526 нм зарегистрировано их наложение, сопровождающееся спектральным длинноволновым сдвигом максимума.

При исследовании «НЧ-флуорофор» спектрофлуометрическим методом было зафиксировано как тушение, так и усиление флуоресценции комплекса. Следует отметить, что при добавлении НЧ молярной концентрацией от  $C/10$  до  $C$  в комплекс «НЧ-флуорофор», наблюдалось уменьшение интенсивности флуоресценции, вне зависимости от морфологии используемых НЧ. Анализ кинетики затухания флуоресценции показал, что при добавлении НЧ различной морфологии наблюдается комбинированное (Au НЧ и Au@SiO<sub>2</sub> НЧ) (рисунок 7а) и статическое тушение (Au НС, Au@SiO<sub>2</sub> НС, Au НЗ, Au@SiO<sub>2</sub> НЗ) (рисунок 7б,в). Однако для комплекса красителя Р6Ж с Au НЧ и Au@SiO<sub>2</sub> НЧ наблюдалась нелинейная зависимость интенсивности флуоресценции ( $F_0/F$ ) от молярной концентрации тушителя.



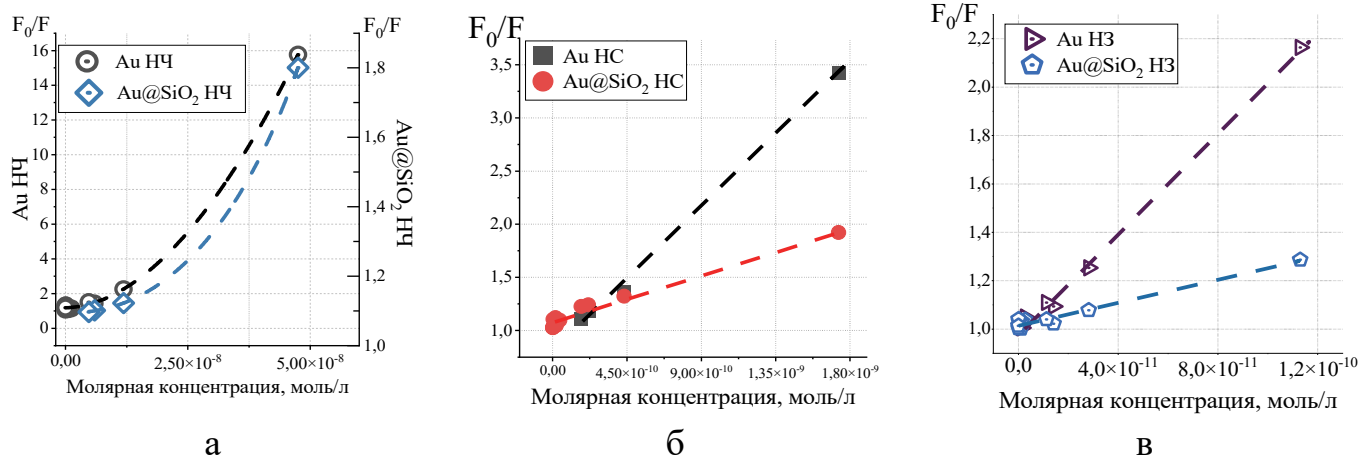


Рисунок 7. Зависимости Штерна-Фольмера на интервалах тушения флуоресценции при добавлении: а-Аu НЧ и Au@SiO<sub>2</sub> НЧ; б-Аu НС, Au@SiO<sub>2</sub> НС; в-Аu НЗ, Au@SiO<sub>2</sub> НЗ

Усиление флуоресценции красителя в комплексе было зафиксировано при добавлении Au НС молярных концентраций  $1,73 \cdot 10^{-12} \div 2,16 \cdot 10^{-11}$  моль/л (рисунок 8). Интенсивность флуоресценции увеличивается за счет локально усиленного электрического поля, формирующегося на боковых поверхностях и на торцах Au НС, или в результате передачи энергии и последующего излучения, происходящего между молекулами Р6Ж и Au НС. Максимальное усиление флуоресценции в 1,2 раза относительно контрольного значения флуоресценции красителя Р6Ж зарегистрировано при добавлении Au НС молярной концентрации  $2,16 \cdot 10^{-11}$  моль/л.

Процесс безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения между донором (молекулы красителя Р6Ж) и акцептором (НЧ) исследован с помощью модели Фёрстера<sup>13</sup>. Проведена оценка параметров энергетического диполь-дипольного переноса энергии (*d-d* перенос энергии) для комплексов «НЧ-флуорофор» при молярной концентрации НЧ (Au НЧ, Au@SiO<sub>2</sub> НЧ, Au НС Au@SiO<sub>2</sub> НС, Au НЗ, Au@SiO<sub>2</sub> НЗ) от *C* до *C/40*, в частности, были оценены критические радиусы переноса энергии (таблица 1). Из таблицы 1 видно, что  $R_0$  зависит от молярной концентрации и размеров НЧ, в том числе от толщины кремнезёмной оболочки. Расчёт критического радиуса *d-d* переноса энергии показал, что, в основном, с уменьшением молярной концентрации НЧ (Au НЧ, Au НС, Au НЗ, Au@SiO<sub>2</sub> НЗ) от *C* до *C/40* в комплексе с Р6Ж уменьшаются и значения критического радиуса. Завышенные значения  $R_0$ , относительно критического радиуса переноса энергии в модели Фёрстера, при добавлении в комплекс Au НЗ,

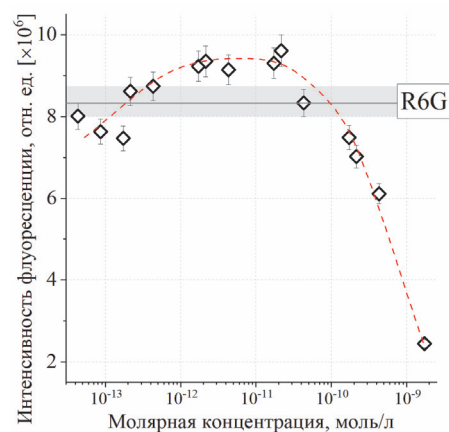


Рис. 8. Зависимость интенсивности флуоресценции красителя Р6Ж в комплексе с Au НС варьруемой молярной концентрацией

<sup>13</sup> Förster T. Zwischenmolekulare energiewanderung und fluoreszenz //Annalen der physik. – 1948. – Vol. 437. – No. 1-2. – P. 55-75.

Au@SiO<sub>2</sub> НЗ связаны с малым перекрытием максимума оптической плотности акцептора (Au НЗ, Au@SiO<sub>2</sub> НЗ) и полосой флуоресценции донора (Р6Ж), а также с большим размером комплексов. Также при исследовании эффективности процесса переноса между донором и акцептором было установлено, что в комплексе «Р6Ж-Au НС», при начальной молярной концентрации (С) золотых НС, была достигнута максимальная эффективность переноса (E=8,4%).

Таблица 1.

Критические радиусы  $d-d$  переноса энергии

| $R_0$ , нм | Au НЧ | Au@SiO <sub>2</sub> НЧ | Au НС | Au@SiO <sub>2</sub> НС | Au НЗ | Au@SiO <sub>2</sub> НЗ |
|------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|
| С          | 2,35  | 1,73                   | 9,67  | 10,40                  | 38,09 | 31,25                  |
| С/4        | 2,37  | 1,74                   | 9,88  | 10,13                  | 38,20 | 31,28                  |
| С/8        | 2,27  | 1,75                   | 9,63  | 10,10                  | 38,31 | 31,18                  |
| С/10       | 2,21  | 1,76                   | 9,56  | 10,08                  | 38,01 | 31,21                  |
| С/40       | -     | 1,81                   | 8,84  | 9,66                   | 38,01 | 31,44                  |

Для исследования плазмон-усиленных процессов КРС молекулами красителя Р6Ж молярной концентрации 10<sup>-4</sup> моль/л были синтезированы ГКР-структуры, полученные путём модификации поверхности кварцевых стёкол марки КУ-1 НЧ варьруемой геометрии. Коллоидные НЧ были адсорбированы на кварцевую подложку капельным методом одним, двумя и тремя слоями. На зарегистрированном спектре КРС Р6Ж на кварцевой подложке без модификации НЧ наблюдается небольшая интенсивность пиков при 754, 963, 1275, 1365, 1395 и 1440 см<sup>-1</sup>. Максимальное значение интенсивности было зарегистрировано для пика 1395 см<sup>-1</sup>. При адсорбции Р6Ж на ГКР-поверхности максимальные значения интенсивности рассеянного света молекулами красителя были выявлены в случаях модификации кварцевых стёкол золотыми НЧ без кремнезёмной оболочки (Au НЧ, Au НС, Au НЗ) (рисунок 9). Анализ ГКРС-спектров Р6Ж показал, что в случае его адсорбции на Au НЗ максимальное значение интенсивности было зарегистрировано при 2-х слоях НЧ для пика 1510 см<sup>-1</sup>. При осаждении красителя на Au НС, усиление интенсивности сигнала КРС наблюдалось от слоя к слою. Максимальное усиление было зарегистрировано при 3-х слоях золотых НС для пика 618 см<sup>-1</sup>. В случае Au НЧ при тех же параметрах регистрации ГКРС-сигнала, наибольшее значение интенсивности рассеянного света красителя было зафиксировано в случае однослойного нанесения НЧ на кварцевую поверхность. Отметим, что регистрации спектра ГКРС красителя, адсорбированного на трёх слоях Au НЧ, была осуществлена при ослаблении лазерного излучения в 100 раз, что поз-

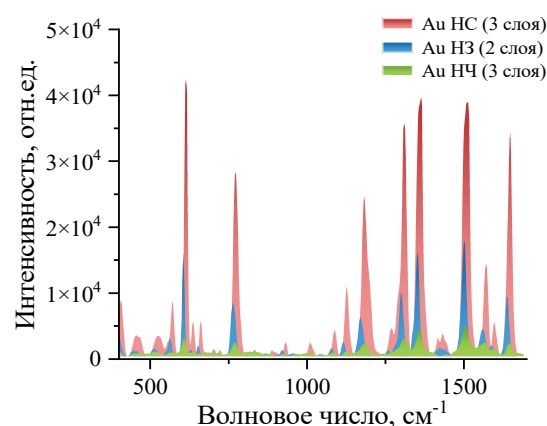


Рисунок 9. Спектр ГКРС Р6Ж (10<sup>-4</sup> моль/л) на поверхности модифицированного золотыми НЧ кварцевого стекла

... (text continues from previous block)

воляет предположить возможность большего значения интенсивности сигнала. Численный расчёт аналитических коэффициентов усиления (англ. *enhancement factor* (EF)) сигнала ГКРС<sup>14</sup> показал, что значение усиления рассеяния света молекулами РБЖ на золотых сферических НЧ без кремнезёмной оболочки может достигать  $EF > 10^5$  (таблица 2). Бóльшее усиление КРС на Au НЧ связано с совокупностью факторов таких как, частотное соответствие максимумов оптической плотности Au НЧ и РБЖ с длиной волны лазерного возбуждения.

Таблица 2.

Коэффициенты усиления ГКРС

| Тип нанобъекта | Кол-во слоёв | EF       |
|----------------|--------------|----------|
| Au НЧ          | 1            | 23       |
| Au НЧ          | 3            | $> 10^5$ |
| Au НС          | 3            | 880      |
| Au НЗ          | 2            | 770      |

Таким образом продемонстрировано, что в зависимости от слоёв и геометрии НЧ наблюдается различное усиление комбинационного рассеяния света.

**В пятой главе** представлены результаты спектральных и спектрально-кинетических исследований собственной и плазмон-индуцированной флуоресценции и рассеяния биообъекта на примере тромбоцита до и после активации коллагеном, тромбином, АДФ, полученных с помощью спектроскопии ГКРС, а также флуоресцентной спектроскопии и время-разрешенной флуоресцентной спектроскопии в присутствии и в отсутствии НЧ платины (Pt НЧ). Также представлены результаты по исследованию оптических свойств Pt НЧ. Выбор, связанный с изменением материала НЧ, обусловлен спектральным перекрытием флуоресценции тромбоцитов и поглощением Pt НЧ, поскольку перекрытие спектров является одним из основных требований для реализации переноса энергии (резонансного *d-d* переноса энергии). В результате исследования комплекса «Pt НЧ-тромбоцит» наблюдалось усиление флуоресценции тромбоцитарной массы в комплексе с Pt НЧ при молярных концентрациях НЧ  $0,3 \cdot 10^{-10}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-10}$ ,  $7,5 \cdot 10^{-10}$  и  $15 \cdot 10^{-10}$  моль/л (рисунок 10а). Несмотря на уменьшение интенсивности флуоресценции тромбоцитов (обогащённая тромбоцитами масса, англ. *platelet-rich plasma* (PRP)) между представленными концентрациями Pt НЧ, стоит предположить, что диапазон молярных концентраций Pt НЧ от  $0,3 \cdot 10^{-10}$  моль/л до  $17,5 \cdot 10^{-10}$  моль/л является оптимальным для получения усиления флуоресценции PRP в комплексе с НЧ. Наличие Pt НЧ также привело к уменьшению значения квантового выхода флуоресценции PRP, происходящего в результате энергетического взаимодействия Pt НЧ и флуоресцентных аминокислот тромбоцита.

<sup>14</sup> Procházka M. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy // Biological and medical physics, biomedical engineering. – 2016. – P. 1-221

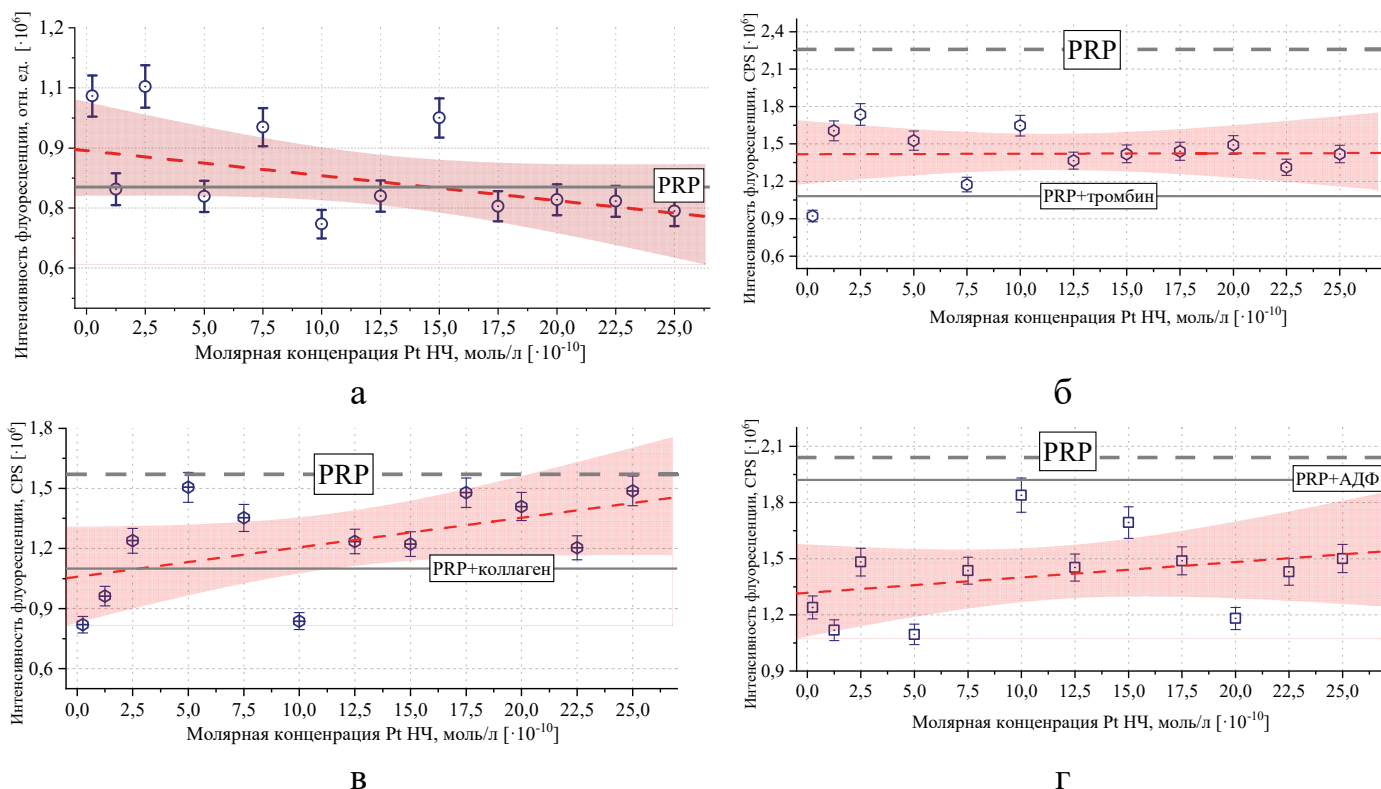


Рисунок 10. Зависимости максимумов интенсивности флуоресценции богатой тромбоцитами массы (PRP) от молярной концентрации Pt НЧ (а), в присутствии тромбина (б), коллагена (в) и АДФ (г).

Исследование параметров электронно-колебательного переноса энергии в рамках модели Фёрстера показало, что критический радиус переноса энергии между донором (PRP) и акцептором (Pt НЧ) имеет значение  $R_0 = 0,58$  нм, константа скорости  $d-d$  переноса достигает  $1,5 \cdot 10^8$  с $^{-1}$ , а эффективность переноса достигает 18%. Следует отметить, что полученные значения константа скорости  $d-d$  переноса по теории Фёрстера значительно меньше, чем диффузионные константы в растворе ( $5 \cdot 10^9$  с $^{-1}$ ), что обусловлено большими геометрическими размера комплекса. Значение критического радиуса электронно-колебательного переноса энергии оказалось меньше, чем необходимое расстояния для осуществления  $d-d$  переноса, что указывает на несостоятельность применения данного механизма переноса энергии. Полученные параметров электронно-колебательного переноса энергии могут быть использованы для реализации практических разработок оптических сенсоров, на основе данных диссертации.

При спектрофлуориметрическом исследовании комплекса «НЧ-тромбоцит-тромбин» было выявлено уменьшение интенсивности флуоресценции тромбоцитов в комплексе с тромбином в 2 раза. Далее при добавлении минимальной концентрации НЧ ( $0,3 \cdot 10^{-10}$  моль/л) происходило тушение флуоресценции PRP (рисунок 10б). Можно предположить, что при данной концентрации НЧ в трёхкомпонентном комплексе, помимо деструктуризации тромбоцитов тромбином, происходит перенос энергии от донора к акцептору (от PRP к НЧ). При дальнейшем увеличении концентрации НЧ наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции относительно комплекса PRP-тромбин. Тем не менее, ни при одной из используемых в работе концентраций

НЧ интенсивность флуоресценции комплексов PRP-тромбин-Pt НЧ не достигала исходного значения флуоресценции.

В диапазонах молярных концентраций от  $(2,5 \div 7,5) \cdot 10^{-10}$  моль/л и  $(12,5 \div 25) \cdot 10^{-10}$  моль/л наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции комплексов относительно контрольных значений комплекса PRP-коллаген (рисунок 9в). Как и в предыдущем случае (PRP-тромбин), ни при одной из рассматриваемых концентраций НЧ значение интенсивности флуоресценции не превышало значения максимума, регистрируемого для PRP.

Для комплекса «НЧ-тромбоцит-АДФ» при добавлении Pt НЧ молярной концентрации  $(0,3 \div 25) \cdot 10^{-10}$  моль/л значения интенсивности флуоресценции PRP уменьшились относительно контрольных значений комплекса PRP-коллаген и PRP (рисунок 9г).

Исследование плазмон-индуцированного рассеяния света тромбоцитов было выполнено на шероховатых титановых пластинах, модифицированных наночастицами золота<sup>15</sup>. На рисунке 11а представлен спектр КРС тромбоцитарной массы. Спектры КРС были зарегистрированы от тромбоцитарной массы, нанесённой на кварцевую поверхность. Параметры регистрации КРС-спектров были идентичны параметрам регистрации ГКРС.

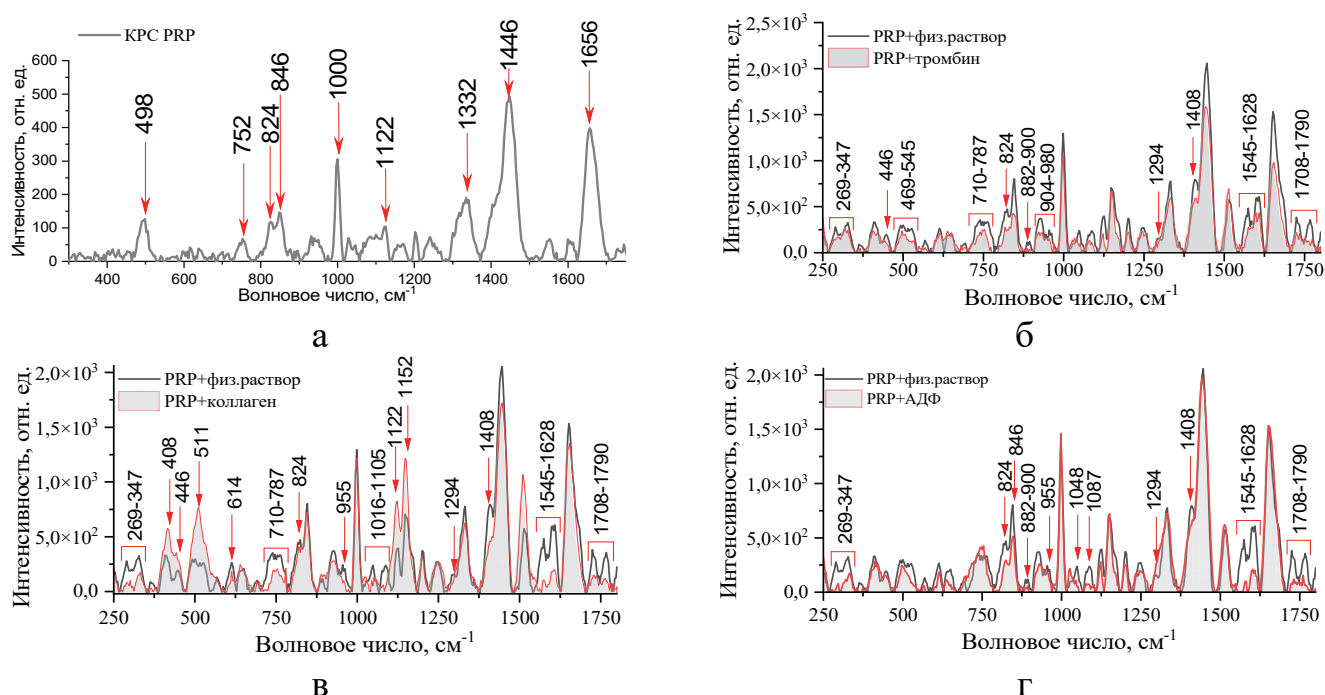


Рисунок 11. Спектры КРС (а) и ГКРС тромбоцитов, активированных тромбином (б), коллагеном (в) и АДФ (г)

Спектр КРС тромбоцитарной массы проявил общую низкую интенсивность сигнала рассеяния света, регистрируемого от тромбоцитарной массы. Максимальная интенсивность наблюдалась для пика  $1446 \text{ см}^{-1}$ . Следует отметить, что даже при низ-

<sup>15</sup> Zyubin A. et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for antiplatelet therapy effectiveness assessment // Laser Physics Letters. – 2020. – Vol. 17. – No. 4. – P. 045601.

кой интенсивности регистрировались следующие моды: 498, 752, 824, 846, 1000, 1122, 1332 и 1656  $\text{см}^{-1}$ . Данные моды также присутствовали на спектрах ГКРС тромбоцитов.

Значение сигнала КР света от PRR, нанесённого на титановые ГКР-структуры, увеличилось в 4,2 раза (мода 1446  $\text{см}^{-1}$ ) относительно сигнала КРС. Анализ зарегистрированных спектров ГКРС тромбоцитов после активации тромбином, коллагеном и АДФ, показал, что во всех случаях происходило уменьшение интенсивности колебательных мод в диапазонах 269 ÷ 347  $\text{см}^{-1}$ , 1545 ÷ 1628  $\text{см}^{-1}$  и 1708 ÷ 1790  $\text{см}^{-1}$  (рисунок 11б-г). Для частотных мод 408 и 446  $\text{см}^{-1}$  наблюдалась различная картина для всех трёх случаев. В случае с коллагеном происходило усиление интенсивности сигнала рассеяния. В комплексе с АДФ интенсивность частотных мод не менялась. Однако, в спектре комплекса PRR-тромбин наблюдалось уменьшение их интенсивности. Область 446 ÷ 476  $\text{см}^{-1}$  соответствует нуклеиновым кислотам и белкам. Частотная мода 446  $\text{см}^{-1}$  является характерным пиком липидов (холестерина) в плазме крови. Уменьшение интенсивности комбинационного рассеяния света PRR в присутствии коллагена и тромбина наблюдалось в диапазоне 710 ÷ 787  $\text{см}^{-1}$  (в данном диапазоне присутствует аминокислота триптофан – Trp (755  $\text{см}^{-1}$ )). Данное явление предположительно связано с конформациями белков на мембране тромбоцитов или внутри нее. Кроме того, наблюдались изменения интенсивности для тирозина (Tyr) в дублете 824 и 846  $\text{см}^{-1}$  во всех трёх случаях. Интенсивность моды на 929  $\text{см}^{-1}$ , связанной с колебаниями связи C-COO<sup>-</sup> и принадлежавшей ароматической альфа-аминокислоте – фенилаланину (Phe), уменьшалась вследствие взаимодействия с активаторами. В области 1016 ÷ 1105  $\text{см}^{-1}$  зарегистрированы две моды, отвечающие за гликоген (1048  $\text{см}^{-1}$ ) и колебания скелетного остова в липидах (1087  $\text{см}^{-1}$ ). Частотная мода гликогена в присутствии коллагена и АДФ был смещен в низкочастотную спектральную область (1026  $\text{см}^{-1}$ ). В спектре тромбоцитарной массы имелся ещё один пик аминокислоты – аргинина (Arg). Помимо влияния на тирозин, триптофан и фенилаланин, можно было также наблюдать изменения и в моде аргинина 1408  $\text{см}^{-1}$ . В случае с тромбином данный пик чётко проявлялся в спектре, однако при коллагене и АДФ – имел пологую форму. Во всех случаях интенсивность уменьшалась. В области 1545 ÷ 1628  $\text{см}^{-1}$  присутствовала мода фенилаланина (1608  $\text{см}^{-1}$ ). Данная частотная мода соответствует растяжению связи C=O. Интенсивность пика падала при активации индукторами (коллаген, АДФ, тромбин). В результате исследования плазмон-индуцированного рассеяния света тромбоцитов показано, что спектроскопия комбинационного рассеяния света является информативным методом для оценки конформационных изменений составляющих сложных биологических объектов и может быть использована в практике.

## Основные результаты и выводы

1) Выполнено моделирование оптических свойств НЧ металлов методом конечных разностей во временной области; получены результаты распределения напряжённости электрического поля вблизи НЧ золота, серебра и платины варьируемых размера и формы. К основным выводам, в части определения оптимальных морфологических параметров НЧ, а также выявления максимальных значений напряжённости электрического поля вблизи НЧ, относятся следующие полученные результаты:

- Максимальные значения напряжения электрического поля вблизи НЧ достигнуты для золотых НЗ с внешним радиусом 20 нм и золотых НС с полудлиной 20 нм при длине волны возбуждения 632 нм. Местами локализации максимальной напряжённости электрического поля для золотых НС и НЗ являются соответственно углы цилиндра и вершины НЗ.
- Для сферических серебряных, золотых и платиновых НЧ получено максимальное значение напряжённости электрического поля для НЧ радиусом 40 нм при длинах волны возбуждения 420, 532 и 280 нм.
- При продольной ориентации НС, относительно вектора колебаний электрического поля, выявлены две полудлины, при которых зафиксированы максимальные значения напряжённости электрического поля (при  $L = 20$  и  $100$  нм для серебряных и при  $L = 20$  и  $80$  нм для золотых НС соответственно).

2) По результатам исследований комплексов «НЧ-флуорофор» и Р6Ж методами спектрофотометрии, спектрофлуометрии, КР- и ГКР-спектроскопии получены следующие результаты:

- При исследовании флуоресцентных свойств комплекса «НЧ-флуорофор» обнаружены как тушение, так и усиление флуоресценции, причем в большинстве используемых концентраций Au НЧ, Au@SiO<sub>2</sub> НЧ, Au@SiO<sub>2</sub> НС, Au НЗ, Au@SiO<sub>2</sub> НЗ наблюдалось тушение флуоресценции красителя в комплексе с НЧ. Анализ кинетики затухания флуоресценции показал, что при добавлении НЧ варьируемой геометрии наблюдается как статический, так и комбинированный процесс тушения. Усиление флуоресценции красителя в комплексе было зафиксировано при добавлении Au НС молярной концентрации  $1,73 \cdot 10^{-12}$  моль/л,  $2,16 \cdot 10^{-12}$  моль/л,  $4,32 \cdot 10^{-12}$  моль/л,  $1,73 \cdot 10^{-11}$  моль/л,  $2,16 \cdot 10^{-11}$  моль/л. Максимальное усиление флуоресценции в 1,15 раз относительно контрольного значения зарегистрировано при добавлении Au НС молярной концентрации  $2,16 \cdot 10^{-11}$  моль/л.
- При исследовании эффективности  $d-d$  переноса энергии между донором (Р6Ж) и акцептором (Au НС) установлено, что в комплексе красителя Р6Ж с Au НС эффективность переноса составляет 8,4%.
- Для усиления сигнала КР модельной молекулы Р6Ж получены ГКРС структуры, основанные на модификации кварцевых стёкол НЧ золота варьируемой

формы. Максимальный коэффициент усиления сигнала ГКР ( $EF > 10^5$ ), при исследовании молекул РБЖ, был достигнут на кварцевых стёклах с нанесенными золотыми сферическими НЧ без кремнезёмной оболочки (Au НЧ), что, в свою очередь, подтверждает эффективности созданных ГКР-структур.

3) При проведении спектральных и спектрально-кинетических исследований собственной и плазмон-индуцированной флуоресценции и КР биообъекта на примере тромбоцита до и после активации коллагеном, тромбином, АДФ в присутствии и без НЧ платины было установлено следующее:

- Увеличение молярной концентрации платиновых НЧ в комплексе с тромбоцитарной массой приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции, относительно контрольных значений флуоресценции PRP. Расчёт параметров энергетического переноса, в рамках модели Фёрстера, показал, что критический радиус переноса между донором (PRP) и акцептором (Pt НЧ) имеет значение 0,58 нм, константа скорости  $d-d$  переноса энергии  $1,5 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$ , в то же время значение эффективности переноса составило 18%.
- Присутствие активаторов, таких как тромбин, коллаген, АДФ, в комплексе с тромбоцитарной массой приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции, относительно начальных значений флуоресценции PRP.
- Для комплекса «НЧ-тромбоцит-коллаген» и «НЧ-тромбоцит-тромбин» установлено, что увеличение молярной концентрации платиновых НЧ приводит к увеличению интенсивности флуоресценции относительно контрольных значений флуоресценции комплексов «PRP-активатор».
- Исследование структуры тромбоцитов методом ГКРС при активации коллагеном, тромбином и АДФ, выявило спектральные изменения состава тромбоцита и потенциальные биофизические маркеры таких изменений.

### Список публикаций автора по теме диссертации

*Публикации в рецензируемых научных журналах, удовлетворяющих Положению о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова:*

- A1. Zyubin A., Rafalskiy V., Lopatin M., Demishkevich E., Moiseeva E., **Matveeva K.**, Kon I., Khankaev A., Kundalevich A., Butova V., Lipnevich L., Lyatun I., Samusev I., Bryukhanov V. *Spectral homogeneity of human platelets investigated by SERS // PLOS One.* – 2022. – Vol. 17. – No. 5. – P. e0265247. **IF = 3,24 (WoS)**
- A2. **Matveeva K.**, Zyubin A., Demishkevich E., Rafalskiy V., Moiseeva E., Kon I., Kundalevich A., Butova V., Samusev I. *Spectral and time-resolved photoluminescence of human platelets doped with platinum nanoparticles // PLOS One.* – 2021. – Vol. 16. – No. 9. – P. e0256621. **IF = 3,24 (WoS)**
- A3. **Matveeva K.**, Zyubin A., Ognedyuk A., Demishkevich E., Kon I., Samusev I. *Photo-physical properties of Au and Au@ SiO<sub>2</sub> nanoparticle-dye complexes in mesoporous*



*silica matrices for theranostics purposes* // Romanian Journal of Physics. – 2021. – Vol. 66. – No. 7-8. – P. 907. **IF = 1,72 (Scopus)**

- A4. Zyubin A., Kon I., Tcibulnikova A., **Matveeva K.**, Khankaev A., Myslitskaya N., Lipnevich L., Demishkevich E., Medvedskaya P., Samusev I., Bryukhanov V., Demin M. *Numerical FDTD-based simulations and Raman experiments of femtosecond LIPSS* // Optics Express. – 2021. – Vol. 29. – No. 3. – P. 4547-4558. **IF = 3,894 (WoS)**
- A5. Zyubin A., Rafalskiy V., Tcibulnikova A., Moiseeva E., **Matveeva K.**, Tsapkova A., Lyatun I., Medvedskaya P., Samusev I., Demin M. *Surface-enhanced Raman spectroscopy for antiplatelet therapy effectiveness assessment* // Laser Physics Letters. – 2020. – Vol. 17. – No. 4. – P. 045601. **IF = 1,773 (Scopus)**
- A6. Zyubin A., Rafalskiy V., Tcibulnikova A., **Matveeva K.**, Moiseeva E., Tsapkova A., Samusev I., Bryukhanov V., Demin M. *Dataset of human platelets in healthy and individuals with cardiovascular pathology obtained by surface-enhanced Raman spectroscopy* // Data in Brief. – 2020. – Vol. 29. – P. 105145. **IF = 1,38 (Scopus)**

*Публикации в других рецензируемых научных журналах:*

- A7. **Матвеева К.И.**, Зозуля А.С., Самусев И.Г. *Синтезирование сфероидальных серебряных наночастиц в полимерных средах* // Актуальные научные исследования в современном мире. – 2021. – № 4-10. – С. 156-159.
- A8. **Матвеева К.И.**, Зюбин А.Ю., Самусев И.Г., Брюханов В.В. *Гигантское комбинационное рассеяние света органолюминофоров, адсорбированных на кварцевой поверхности, модифицированной наночастицами серебра* // Международный научно-исследовательский журнал. – 2019. – № 10 (88). – С. 6-10.

*Патенты:*

- A9. Патент на изобретение РФ № RU 2 708 546 С1. Зюбин А.Ю., Константинова Е.И., Слежкин В.А., **Матвеева К.И.**, Самусев И.Г., Демин М.В., Брюханов В.В. *Способ получения усиленного сигнала комбинационного рассеяния света от молекул сывороточного альбумина человека в капле жидкости* // Патент России № 2708546. 2019. Бюл. № 34. 2019.
- A10. Патент на изобретение РФ № RU 2 720 075 С1. Зюбин А.Ю., **Матвеева К.И.**, Самусев И.Г., Демин М.В. *Оптический сенсор с плазмонной структурой для определения химических веществ низких концентраций и способ его получения* // Патент России № 2720075. 2019. Бюл. № 12. 2020.

*Публикации в сборниках и тезисы докладов:*

- A11. Zyubin A.Y., **Matveeva K.I.**, Kon I.I., Kalinnikov D.S., Shevchenko M.A., Samusev I.G. *New method of SERS-active gold surfaces fabrication for bacterial cells Raman*

- analysis // Nanophotonics VIII. – International Society for Optics and Photonics, 2020. – Vol. 11345. – P. 113452I.
- A12. Zyubin A.Y., Rafalskiy, V.V., Tcibulnikova, A.V., **Matveeva K.I.**, Moiseeva E.M., Kolosova V.V. et al. Single human platelet study using surface-enhanced Raman spectroscopy as a perspective tool for antiplatelet therapy effectiveness prediction // Optics in Health Care and Biomedical Optics IX. – SPIE, 2019. – Vol. 11190. – P. 37-42.
- A13. **Matveeva K.I.**, Zyubin A.Y., Demishkevich E.A., Lipnevich L.L., Kundalevich A.A., Samusev I.G. Sensing solutions for SERS applications using gold nanoparticle modified quartz surfaces // Nanophotonics VIII. – International Society for Optics and Photonics, 2020. – Vol. 11345. – P. 113452C.
- A14. Zyubin A.Y., Rafalskiy V.V., **Matveeva K.I.**, Moiseeva E.M., Tsapkova A.A., Demishkevich E.A., Samusev I.G., Bryukhanov V.V. et al. Photophysical properties of nanoparticle-dye-protein complexes for fluorescent labeling purposes // Plasmonics V. – International Society for Optics and Photonics, 2020. – Vol. 11557. – P. 115570F.
- A15. Samusev I., Tcibulnikova A., Slezhkin V., **Matveeva K.**, Demin M., Khankaev A., Lyatun I., Bryukhanov V. Transformation of refractive index spectra for titanium rough surfaces // Metamaterials XII. – International Society for Optics and Photonics, 2020. – Vol. 11344. – P. 1134422.
- A16. Zyubin A.Y., **Matveeva K.I.**, Kalinnikov D.S., Samusev I.G. Surface-enhanced Raman spectroscopy of organoluminophores adsorbed on quartz surfaces modified by hydrosols of silver and gold nanoparticles // Plasmonics IV. – SPIE, 2019. – Vol. 11194. – P. 40-45.
- A17. Zyubin A.Y., Alexandrov K.Y., **Matveeva K.I.**, Samusev I.G. Plasmon-enhanced fluorescence of nanoparticle-dye-protein complex as perspective approach for increase in fluorescent labeling effectiveness // Nanophotonics and Micro/Nano Optics V. – SPIE, 2019. – Vol. 11193. – P. 42-48.
- A18. Konstantinova E., Zyubin A., Moiseeva E., **Matveeva K.**, Slezhkin V., Samusev I., Bryukhanov V. Application of quantum dots CdZnSeS/ZnS luminescence, enhanced by plasmons of silver rough surface for detection of albumin in blood facies of infected person // Biophotonics—Riga 2017. – SPIE, 2017. – Vol. 10592. – P. 62-68.
- A19. Zyubin A.Y., Konstantinova E.I., **Matveeva K.I.**, Slezhkin V.A., Samusev I.G., Demin M.V., Bryukhanov V.V. Application of silver films with different roughness parameter for septic human serum albumin detection by Surface Enhanced Raman Spectroscopy // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2018. – Vol. 945. – No. 1. – P. 012011.