

# МЕТОД КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ В АНАЛИЗЕ БИОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ВЕЩЕСТВ

В.Н.Беляцкий

## Актуальность

Изучение биологически важных соединений физико-химическим методами, особенно в их нативном состоянии, является актуальным. Особую роль представляет также экспертиза фармацевтических субстанций и обнаружение сверхнизких концентраций экологических загрязнений.

## Цель.

Проведение сравнения таблеток в блистере и без упаковки, а также сравнение с литературными данными по анализу биологически важных объектов методом ГКР.

По основе собственных экспериментов и литературных данных изучить следующие возможности метода спектроскопии комбинационного рассеяния:

- Анализ структуры биологически важных соединений;
- Определение сверхнизких концентраций веществ;
- Идентификация подлинности фармпрепаратов не вскрывая блистерной упаковки.
- Определение конформации молекул в липидном бислое мембран

## Материалы и методы

Прибор комбинационного рассеяния с конфокальным микроскопом.

**Физические основы метода.**

При воздействии на вещество монохроматическим излучением (лазером предпочтительнее) в результате перехода электронов на более высоко лежащие энергетические уровни происходит поглощение энергии, что можно обнаружить в методе ИК-спектроскопии. При возврате молекулы в исходное состояние возникает два набора линий с энергией меньшей и большей относительно энергии возбуждающего излучения, так называемое стоксово- и антистоксово рассеяние. Из-за большей интенсивности линий стоксово рассеяния именно оно и используется для интерпретации спектров. Значение сдвигов линий по величине и типам колебаний молекулы соответствует тем, которые наблюдаются в ИК-спектроскопии. Однако, из-за разной природы возникающих эффектов может наблюдаться значительное отличие в относительной интенсивности линий. Например, линия около  $1380\text{ см}^{-1}$  в спектре хинина практически отсутствует в ИК-спектре, по является самой интенсивной в КР-спектре. Хотя возникновение сигнала в ИК- и КР-спектроскопии обусловлено одним и тем же набором энергетических уровней молекулы, разные физические принципы появления аналитического сигнала обуславливают наблюдающееся изменение относительной интенсивности линий (рис.1а).

В 1970 г. был открыт эффект гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), или surface enhanced Raman spectroscopy (SERS), суть которого заключается в том, что, если облучать поверхность с нанесенными на нее наночастицами металлов излучением лазера, формируется поверхностный плазмон – квант колебаний поверхности, которая передается адсорбированным молекулам. При этом наблюдается значительное, до  $10^6$  раз, увеличение интенсивности сигнала (рис. 1б).

<p>Рисунок 1. — ИК спектры (1) и спектры КР света (2) хинина.</p>	<p>Figure 3. SERS-spectra of (a) aspirin and (b) ibuprofen molecules adsorbed on the silvered PSI.</p>
<p>1а) Сравнение ИК- и рамановских спектров хинина, полученных методом комбинационного рассеяния</p>	<p>1б) Гигантское комбинационное рассеяние (SERS), молекул ацетилсалициловой кислоты и ибупрофена, полученное на</p>

	наночастицах Ag/Si
--	--------------------

Рис.1. КР- и ИК спектры различных соединений

	<p><b>Условия SERS эффекта</b></p> <p>1. Сильный плазмонный Me  2. Наноструктурирование Me</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• сферы,</li> <li>• кубы,</li> <li>• треугольники,</li> <li>• дендриты,</li> <li>• стержни</li> </ul> <p><b>10 – 150 нм</b></p>  <p><small>Hong Jun Yin et al. Scientific Reports 5, 14862 (2015).</small></p>
<p>Кремниевые пластины для получения наночастиц металлов. В электронике – основа материалов микро- и нанoeлектроники</p>	<p>Различные структуры для получения SERS активных подложек</p>

Рис.3. Различные типы подложек для получения SERS эффекта.

Вещество может поглощать излучение, в таком случае мы имеем дело в комбинационным рассеянием. Однако, если молекула расположена на поверхности наночастицы металла, например, Ag, Au, Ni и т.д. энергия излучения лазера может накапливаться такой адсорбированной молекулой, и происходит усиление сигнала порядка  $10^6$  раз (гигантское комбинационное рассеяние, SERS).

В методе комбинационного рассеяния большинство полимеров, прозрачно для возникающего кванта излучения, что обусловлено симметрией молекул.

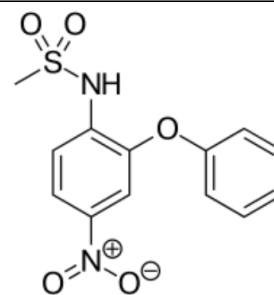
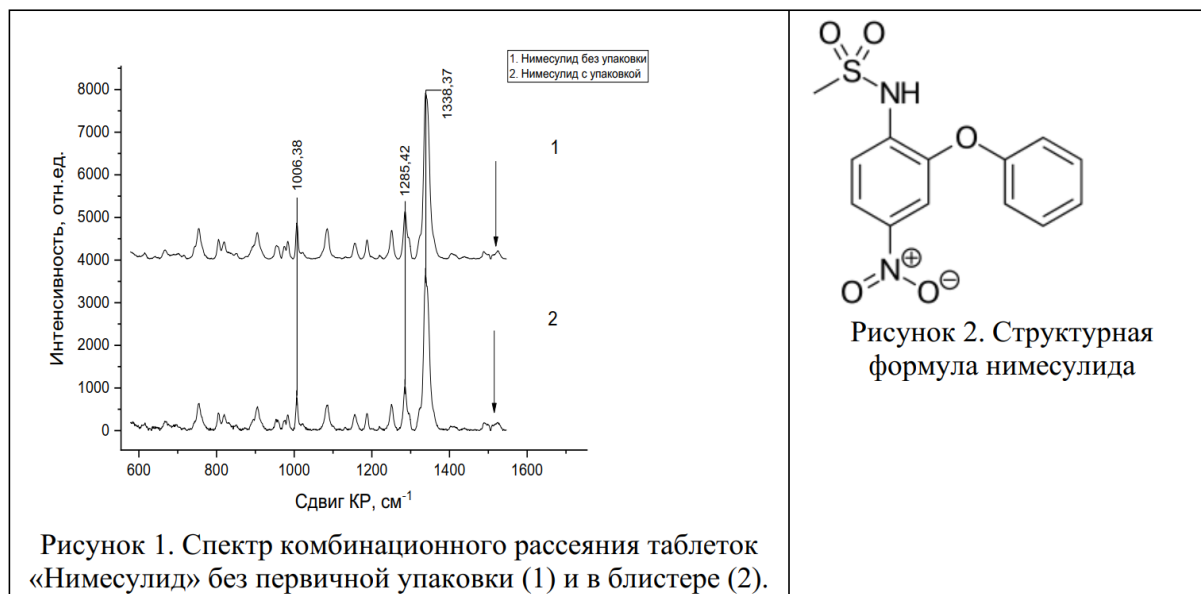
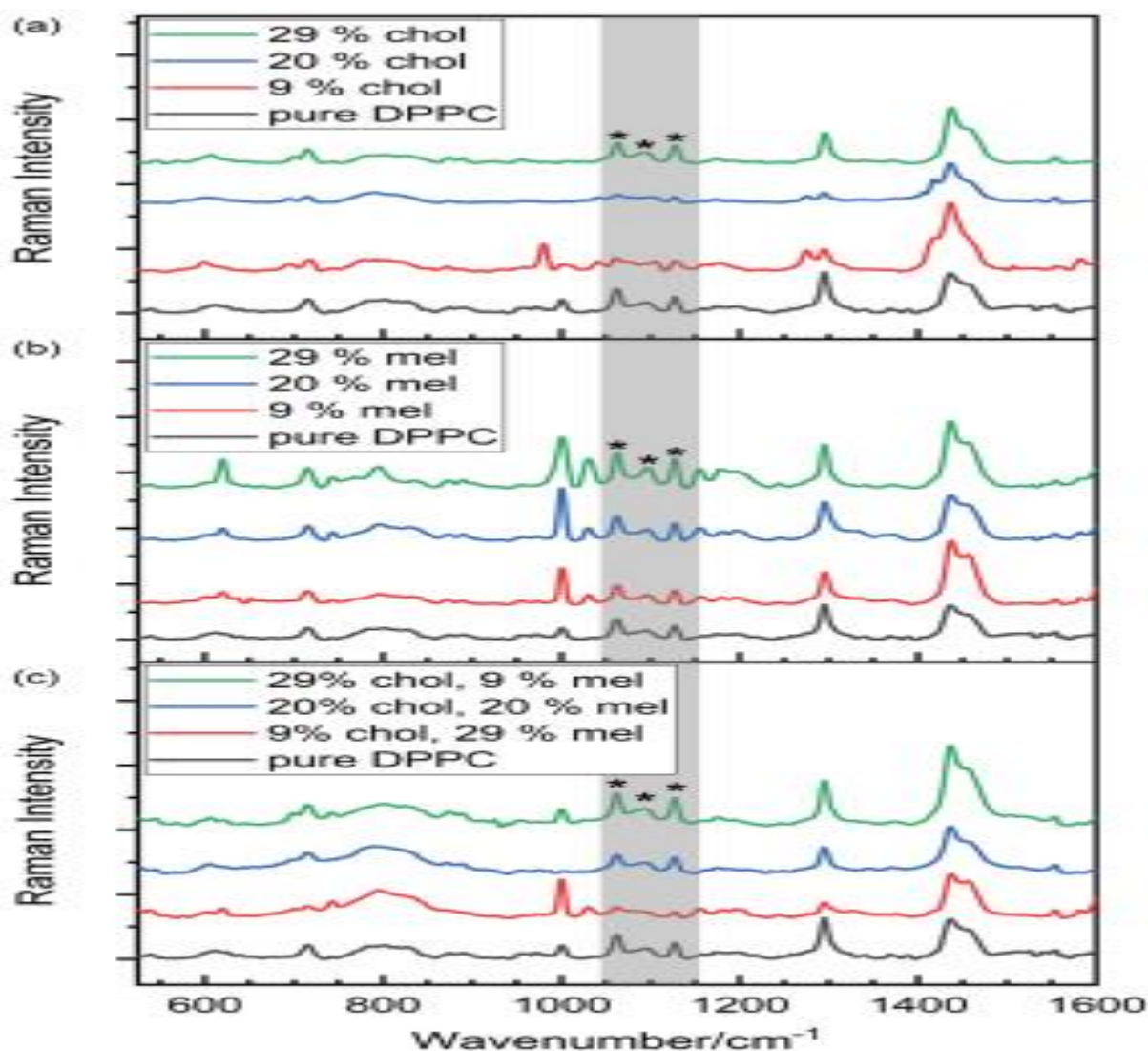


Рисунок 2. Структурная формула нимесулида

Рис.2. Сравнение КР-спектров таблеток нимесулида, снятых без первичной упаковки и в блистере

Это дает возможность проверки подлинности препаратов, даже не вскрывая блистерной упаковки (рис.2)

Метод комбинационного рассеяния, в отличие от метода ИК-спектроскопии, позволяет идентифицировать конформацию молекул, что может быть полезно, например, при анализе структуры бислоя клеточных мембран и влиянии на него различных молекул.



**FIGURE 3** Experimental Raman spectra for DPPC with 0%–29% of (a) chol., (b) mel., and (c) chol./mel. Asterisks mark 1063, 1096, and 1128  $\text{cm}^{-1}$  Raman modes [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

На основании представленных данных авторы делают вывод о том, что снижается жесткость клеточных мембран в присутствии холестерина и мелатонина

#### Выводы.

На представленных спектрах видны возможности методов КР- и ГКР-спектроскопии как в анализе структуры веществ, так и в определении сверхнизких концентраций фармакологических субстанций, а также возможности проверки подлинности препаратов, даже не вскрывая блистерной упаковки

#### Литература

1. Larkin, P. Infrared and raman spectroscopy: principles and spectral interpretation / P. Larkin. // Elsevier. – 2011. – 239 с.
2. Спектроскопические методы исследования материалов фотоники / В.А. Асеев [и др.]. – СПб: Университет ИТМО. – 2021. – 97 с.
3. Zavatski S., Bandarenka H., Hetmanczyk L. et. Al/ Raman spectroscopy –DOI: 10.1002/jrs.6409 -2022