

## МОДИФИКАЦИЯ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЕЁ СИГНАЛА ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙНИЯ НА СЕРЕБРЯНЫХ НАНОСТРУКТУРАХ

И.И. Ащеулов<sup>1)</sup>, Б.В. Ронишенко<sup>2)</sup>, С.Н. Терехов<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Институт физики НАН Беларуси, пр. Независимости 68-2, Минск 220072, Беларусь,  
ioann.ascheulov@gmail.com, s.terekhov@ifanbel.bas-net.by

<sup>2)</sup>Институт физико-органической химии НАН Беларуси,  
ул. Сурганова 13, Минск 220072, Беларусь, ranishenka@gmail.com

С целью улучшения сигнала гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) фолиевой кислоты, а также демонстрации важности зарядовых эффектов при работе с ГКР-субстратами на основе серебра, проведена ковалентная модификация фолиевой кислоты одной и двумя четвертичными аминогруппами. В качестве ГКР-субстратов использовали стеклянные подложки с наночастицами серебра, нанесёнными методом адсорбционной иммобилизации. Спектры ГКР производных фолиевой кислоты, содержащих положительно заряженные группы показали в разы большую интенсивность сигнала. При этом, дополнительная обработка образцов цитратом натрия позволила интенсифицировать эффект электростатического взаимодействия и получить увеличение сигнала ГКР в 4,3 и 9,5 раз для соответственно моно- и двухзамещенной фолиевой кислоты относительно исходной немодифицированной при тех же условиях.

**Ключевые слова:** фолиевая кислота; гигантское комбинационное рассеяние; электростатическое взаимодействие; наночастицы серебра; карбодимидная конденсация; адсорбционная иммобилизация; четвертичные аминогруппы.

## FOLIC ACID MODIFICATION TO INCREASE ITS SURFACE ENHANCED RAMAN SCATTERING SIGNAL ON SILVER NANOSTRUCTURES

Ioann Ascheulov<sup>1)</sup>, Bahdan Ranishenka<sup>2)</sup>, Sergei Terekhov<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>B.I. Stepanov Institute of Physics NAS Belarus,  
68-2 Nezavisimosti Ave., 220072 Minsk, Belarus,  
ioann.ascheulov@gmail.com, s.terekhov@ifanbel.bas-net.by

<sup>2)</sup>Institute of Physical Organic Chemistry NAS Belarus,  
13 Surganov Str., 220072 Minsk, Belarus, ranishenka@gmail.com

Covalent modification of folic acid with one and two quaternary amino groups have been carried out to improve surface enhanced raman scattering (SERS) signal as well as to demonstrate the importance of charge effects when working with silver based SERS substrates. Glass substrates with silver nanoparticles deposited by adsorption immobilization were used as SERS substrates. The SERS spectra of the folic acid derivatives containing positively charged groups showed a significantly higher signal intensity. Additional sodium citrate treatment of the samples made it possible to intensify the effect of electrostatic interaction and obtain an increase in the SERS signal by 4.3 and 9.5 times for mono- and disubstituted folic acid, respectively, relative to the original unmodified one under the same conditions.

**Keywords:** folic acid; surface enhanced Raman scattering; electrostatic interaction; silver nanoparticles; carbodiimide condensation; adsorption immobilization; quaternary amino groups.

### Введение

Спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния (ГКР), на данный момент, является одним из наиболее популярных направлений исследования благодаря широкому перспективам её практиче-

ского применения для анализа, в первую очередь, различных органических веществ за счёт высокой чувствительности, специфичности и потенциальной простоты использования. Вместе с тем, сам эффект ГКР связан с множеством физико-

химических процессов, которые требуют глубокого понимания и исследования для успешного использования метода на практике [1]. В частности, серебряные плазмонные поверхности дают наибольшее усиление сигнала КР [1, 2], но из-за большей химической активности и более сложных поверхностных эффектов применяются намного реже, чем аналогичные золотые субстраты [1]. Ранее опубликованные нами исследования указывают на наличие заряда на поверхности серебра в водной среде, который играет важную роль в адсорбции аналита, что позволило предложить инверсию заряда молекул аналита для улучшения его сигнала ГКР [3].

Важной областью практического применения ГКР является анализ биомолекул. Фолиевая кислота играет важную роль в организме человека и является компонентом многих биохимических процессов, что делает необходимым её детектирование [4-6]. Вместе с тем, молекула фолиевой кислоты имеет в водном растворе отрицательный заряд и содержит две карбоксильные группы, удобные для химической модификации.

### Методика эксперимента

Образцы ГКР активных субстратов получали методом адсорбционной иммобилизации по описанной ранее методике [3].

Ковалентную модификацию фолиевой кислоты четвертичными аминогруппами осуществляли путём карбодиимидной конденсации с амином (хлорид (3-аминопропил)триметиламмония). Отдельно синтезировали продукт модификации одной (смесь изомеров) и двух карбоксильных групп фолиевой кислоты.

Для нанесения на подложку использовали растворы аналитов с концентрацией 1 мкМ. Аналит наносили капельным методом (50 мкл на подложку 8мм×8мм). Цитрат натрия (0,5 мМ) наносили аналогично поверх высушенного аналита.

Измерения ГКР проводились с помощью рамановского микроскопа

«NanoFlex» (Solar LS, Беларусь). Источником возбуждения был аргоновый ионный лазер на 488.0 нм (Melles Griot, США). Возбуждение и измерение комбинационного рассеяния осуществляли с помощью 100×объектива и ПЗС-камеры «Newton 970 EMCCD DU970PBV» (Andor Technology Ltd, Великобритания).

### Результаты и их обсуждение

На рисунке 1 представлены ГКР-спектры фолиевой кислоты, а также продуктов её модификации одной и двумя четвертичными аминогруппами. Спектр фолиевой кислоты соответствует ранее опубликованным литературным данным [6] и мало отличается от спектров её производных. Сравнение спектров ГКР по интенсивности сигнала демонстрирует, что фолиевая кислота с одной четвертичной аминогруппой даёт примерно в 2 раза более интенсивный сигнал (по полосе 1495 см<sup>-1</sup>), в то время как фолиевая кислота с двумя четвертичными аминогруппами даёт примерно в 1.5 раза лучший сигнал. Такое наблюдение лишь частично согласуется нашими предположениями, поскольку введение большего положительного заряда должно было приводить к еще большему усилению сигнала ГКР для двухзарядной фолиевой кислоты.

Для создания большего отрицательного заряда на поверхности серебра на образцы с нанесёнными аналитами дополнительно наносили раствор цитрата натрия (рисунок 2). Такая обработка образцов мало повлияла на интенсивность спектров обычной фолиевой кислоты и её монозамещенного производного. Вместе с тем наблюдалось сильное (в 4.5 раза) увеличение интенсивности сигнала двухзамещенной фолиевой кислоты.

На графиках, представленных на рисунке 2, интенсивность сигнала ГКР повышается с увеличением положительного заряда аналитов. При этом, интенсивности сигналов соотносятся как 1:4.3:9.5, что демонстрирует сильное влияние зарядового эффекта.

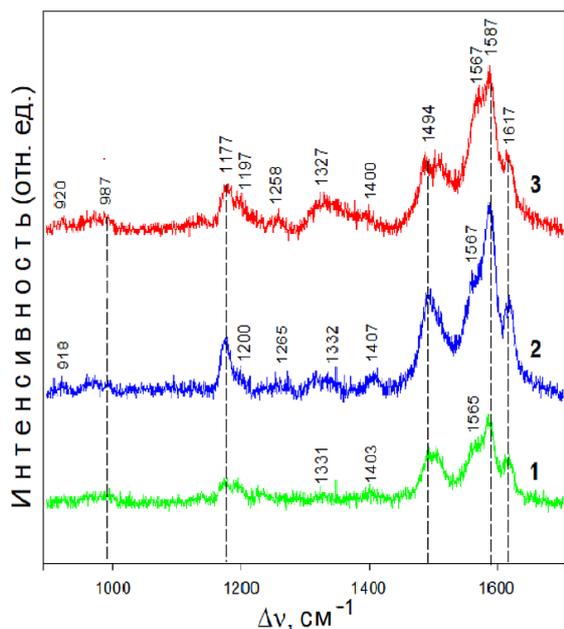


Рис. 1. Спектры ГРК фолиевой кислоты и её производных: 1 – фолиевая кислота; 2 – фолиевая кислота, содержащая одну четвертичную аминогруппу; 3 – фолиевая кислота, содержащая две четвертичных аминогруппы

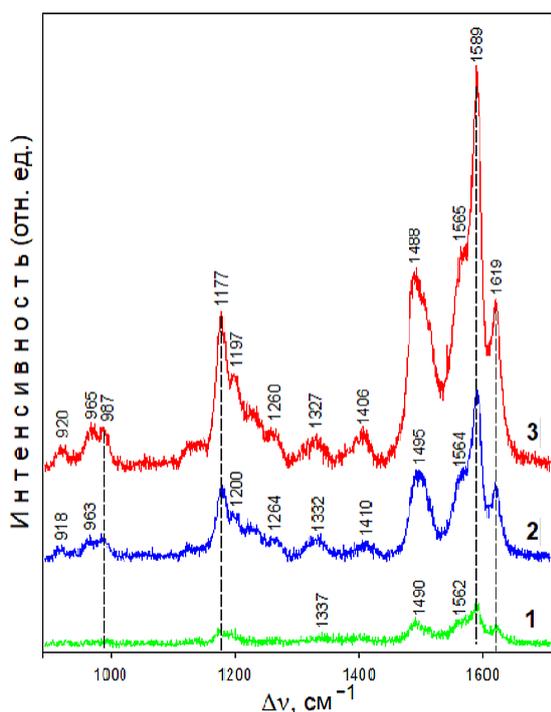


Рис. 2. Спектры ГРК фолиевой кислоты и её производных после дополнительного нанесения цитрата натрия на подложки: 1 – фолиевая кислота; 2 – фолиевая кислота, содержащая одну четвертичную аминогруппу; 3 – фолиевая кислота, содержащая две четвертичных аминогруппы

## Заключение

Введение четвертичных аминогрупп в структуру фолиевой кислоты позволяет улучшить её сигнал ГРК на серебряных субстратах. Эффект увеличения заряда лучше проявляется после дополнительного нанесения раствора цитрата натрия на подложку с высушенным анализом. Таким образом, удалось достигнуть увеличения ГРК-сигнала двухзамещенной четвертичными аминогруппами фолиевой кислоты примерно на порядок по отношению к немодифицированной. Роль цитратной обработки подложек в интенсификации зарядовых эффектов остаётся до конца неясной и требует дальнейшего исследования.

Работа выполнена в рамках договора с БРФФИ Ф22УЗБ-012.

## Библиографические ссылки

1. Langer J., Jimenez de Aberasturi D., Aizpurua J., Alvarez-Puebla R. A., Auguie B., Baumberg J. J. et al. Present and future of surface-enhanced Raman scattering. *ACS nano* 2019; 14(1): 28-117.
2. Xu W., Ling X., Xiao J., Dresselhaus M. S., Kong J., Xu H. et al. Surface enhanced Raman spectroscopy on a flat graphene surface *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012; 109: 9281–9286.
3. Ranishenka B.V., Panarin A.Y., Chelnokova I.A., Terekhov S.N., Mojzes P., Shmanai V.V. Modification of a SERS-active Ag surface to promote adsorption of charged analytes: effect of Cu<sup>2+</sup> ions. *Beilstein J Nanotechnol* 2021; 12: 902-912
4. Batra B., Narwal V., Kalra V., Sharma M., Rana J. S. Folic acid biosensors: A review. *Process Biochemistry* 2020; 92: 343-354.
5. Boca-Farcau S., Potara M., Simon T., Juhem A., Baldeck P., Astilean S. Folic acid-conjugated, SERS-labeled silver nanotriangles for multimodal detection and targeted photothermal treatment on human ovarian cancer cells. *Molecular pharmaceutics* 2014; 11(2): 391-399.
6. Cheuquepan Valenzuela W., Hernández Muñoz S., Pérez Estébanez M., Romay L., Heras Vidaurre A., Colina Santamaría Á. Electrochemical generation of surface enhanced Raman scattering substrates for the determination of folic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 2021; 896: 115288.