**Разработка подходов к определению маркеров нейромедиаторного обмена методами флуоресцентного анализа и спектроскопии ГКР**

***Крылов М.О., Яренков Н.Р., Капитанова О.О.***

*Студент, 3 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail:* *mkryloa@gmail.com*

Нейромедиаторный обмен – это сложная система, в основе которой лежит взаимодействие нейронов с низко- и высокомолекулярными соединениями, называемыми маркерами. Изменения концентрации этих веществ (нейротрансмиттеров) даже на наномолярном уровне приводит к серьезным последствиям для организма, что делает их селективное чувствительное определение важной биоаналитической задачей.

Одним из перспективных методов для решения поставленной задачи является спектроскопия ГКР, сочетающая в себе преимущества рамановской спектроскопии с ее высокой селективностью (метод молекулярных отпечатков) и эффекта поверхностного плазмонного резонанса, наблюдаемого на поверхности наночастиц благородных металлов (Au, Ag). Благодаря этому эффекту достигается усиление аналитического сигнала вплоть до 106 раз, что позволяет увеличить чувствительность определения аналитов.

В данном исследовании были синтезированы наночастицы серебра (НЧ Ag), полученные растворным методом, а также получены сенсорные элементы, представленные композитными структурами на основе хитозана и НЧ Ag. Выбор серебра обусловлен более высокими коэффициентами усиления (КУ) и относительной дешевизной по сравнению с золотом. При использовании НЧ Ag достигается усиление не только рамановского, но и флуоресцентного сигналов, что потенциально позволяет проводить определение аналитов этими методами. Полимерная матрица позволяет получить равномерное распределение НЧ по ее поверхности и как следствие, воспроизводимый аналитический сигнал.

В качестве исследуемого соединения был выбран нейромедиатор, участвующий в деятельности центральной нервной системы, дофамин (ДА). Его избыточное содержание может приводить к развитию болезни Паркинсона, шизофрении и других неврологических заболеваний. Связывание ДА в комплексы с d- и f-металлами, а также использование НЧ Ag позволяет проводить его селективное чувствительное определение методами спектроскопии резонансного ГКР и металл-усиленной флуоресценции.

Для оценки КУ полученных наночастиц и поверхностей синтезировали комплексы ДА с Tb3+ в буфере HEPES (исследование флуоресцентным методом) и Cu2+ с 4-аминоантипирином (исследование методом спектроскопии ГКР). В работе использовали разные типы наночастиц, полученные в присутствии стабилизатора на основе поливинилпирролидона (ПВП) и без него. Спектры флуоресценции системы {Tb3+– HEPES – ДА} – НЧ Ag показали, что интенсивность флуоресценции увеличивается в несколько раз в присутствии наночастиц, полученных с использованием ПВП. Подобранные частицы усиливали сигнал комплекса ДА в 4.4±0.6 (n=3, P=0.95), что способствует повышению чувствительности флуориметрического определения катехоламинов.

Максимум поглощения комплекса ДА с Cu2+ и 4-аминоантипирином совпадает с длиной волны возбуждающего лазерного излучения (532 нм), что позволяет достичь резонансного рамановского рассеяния в целях дополнительного усиления аналитического сигнала. Использование данной системы позволило дополнительно усилить интенсивность сигнала на 2 порядка и получить спектры с лучшей разрешенностью линий. КУ для композитов с НЧ Ag, содержащими ПВП, оказался в 2.2 раза выше КУ композитов с НЧ Ag без полимера и составил КУ=(4.4±0.5) ∙104 (n=3, P=0.95). Предел обнаружения ДА составил 0.74 мкМ с диапазоном линейности от 1 мкМ до 8 мкМ.